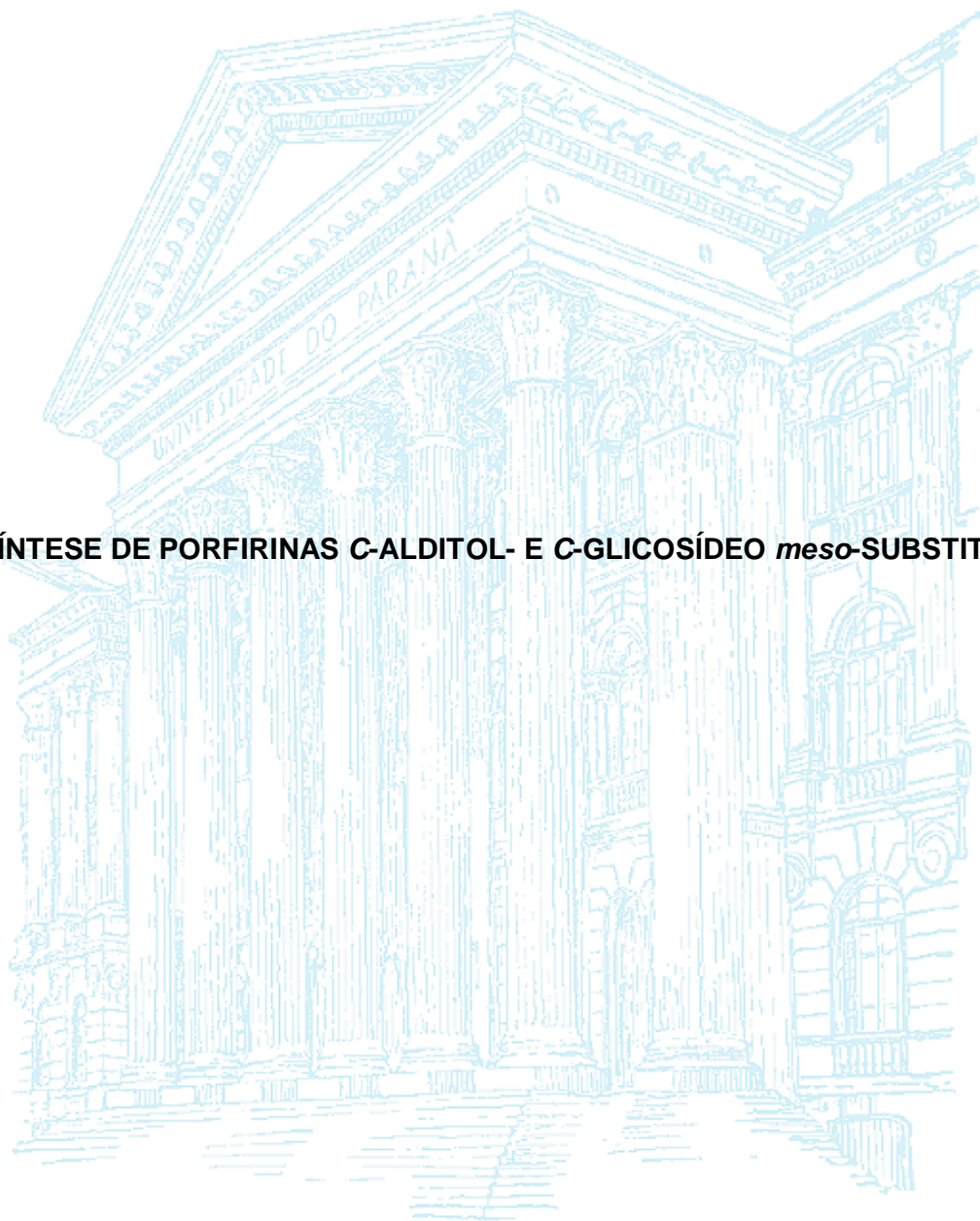


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

STEPHANIE MELISSA SIU LÓ

SÍNTESE DE PORFIRINAS C-ALDITOL- E C-GLICOSÍDEO *meso*-SUBSTITUÍDAS



CURITIBA

2015

**STEPHANIE MELISSA SIU LÓ**

**SÍNTESE DE PORFIRINAS C-ALDITOL E C-GLICOSÍDEO *meso*-SUBSTITUÍDAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Alan Guilherme Gonçalves

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Mara Barreira

**CURITIBA**

**2015**

Ló, Stephanie Melissa Siu

Síntese de porfirinas C-alditol e C-glicosídeo *meso*-substituídas / Stephanie Melissa Siu  
Ló – Curitiba, 2015.

217 f. : il. (algumas color.) ; 30 cm.

Orientador: Professor Dr. Alan Guilherme Gonçalves

Coorientadora: Professora Dra. Sandra Mara Barreira

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de  
Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. 2015.

Inclui bibliografia

1. Porphirinas. 2. Glicoporphirinas. 3. Terapia fotodinâmica. 4. Inativação fotodinâmica.  
I. Gonçalves, Alan Guilherme. II. Barreira, Sandra Mara. III. Universidade Federal do  
Paraná. IV. Título.

CDD 547.593

# TERMO DE APROVAÇÃO

**STEPHANIE MELISSA SIU LÓ**

**Título: "SÍNTESE DE PORFIRINAS meso-SUBSTITUÍDAS C-ALDITOL E C-GLICOSÍDEO"**

Tese aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Doutor, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Insumos, medicamentos e correlatos.

  
Prof. Dr. Alan Guilherme Gonçalves  
Orientador

  
Prof. Dr. Andersson Barison  
Universidade Federal do Paraná

  
Prof. Dr. Shirley Nakagaki  
Universidade Federal do Paraná

  
Prof. Dr. João Paulo Costa Tomé  
Universidade de Aveiro-Portugal

  
Prof. Dr. Hugo Verli  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Curitiba, 30 de março de 2015.

*Dedico este trabalho à minha família, pelo incentivo e amor. Meus agradecimentos a vocês: pai Antonio Ló, mãe Siu Ló e irmã Stella Ló.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela vida e oportunidade de realizar este trabalho.

À minha família, principalmente ao meu pai, à minha mãe, à minha irmã e ao meu cunhado que estiveram sempre presentes em minha vida e me apoiaram nesta caminhada.

Ao meu orientador Prof. Alan Gonçalves pelos ensinamentos, pela confiança, amizade e apoio constante.

À minha co-orientadora Prof<sup>a</sup>. Sandra Barreira pela amizade e incentivo.

Ao Prof. Diogo Ducatti e Prof. Alexandre Orsato pelas contribuições dadas a este trabalho.

Ao Prof. Tomé pela orientação científica prestada durante o doutorado sanduíche.

Ao departamento de Bioquímica da UFPR, especialmente aos professores Miguel Nosedá, Maria Eugênia Duarte, Guilherme L. Sassaki, Marcelo Müller dos Santos e Luciano Fernandes Huergo, pela disponibilização do laboratório e dos equipamentos de RMN e espectrometria de massas.

À Mônica Lopez pela companhia e amizade durante a minha estadia em Portugal. “Somos os momentos que criamos, a intensidade com o que vivemos e a forma como relembramos”.

À Filipa Cerqueira pela amizade e apoio incondicional tanto nos bons e maus momentos.

À Andressa Veiga pela amizade e ajuda na execução dos experimentos neste trabalho.

À Patrícia Pereira pela realização dos experimentos biológicos.

Aos colegas de laboratório Laís, Juliana, Camila, Marina, Matheus, Gislaine, Janaína e Jaqueline pelo companheirismo e amizade. Em especial a Camila e Juliana por me ajudar nos ensaios fotofísicos.

Aos colegas de laboratório durante o doutorado sanduíche: Orlando, Bárbara Coelho, João Pereira e Flávio Figueira pela ajuda e companheirismo.

À Teresinha Medeiro, Massako, Odila, Ana, Alexandre Martins, Arquimedes Santana e Daniel Riter agradeço por todas as conversas, as brincadeiras e pelo apoio constante, porque sem vocês teria sido bem mais difícil.

Aos membros da Comissão Examinadora da minha tese: Prof. Andersson Barison, Profa. Shirley Nakagaki, Prof. João Tomé e Prof. Hugo Verli.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, CAPES, Fundação Araucária, CNPq e Pronex-Carboidratos.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	24
1.1 OBJETIVOS	29
1.1.1 Objetivo Geral	29
1.1.2 Objetivos Específicos	29
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	38
2.1 QUÍMICA DAS PORFIRINAS	38
2.2 APLICAÇÕES DE PORFIRINAS	40
2.2.1 Terapia Fotodinâmica (PDT)	41
2.2.1.1 PDT no câncer	44
2.2.1.2 PDI (inativação fotodinâmica) de micro-organismos	50
2.2.1.2.1 PDI em bactérias	51
2.2.1.2.2 PDI em fungos	53
2.2.1.2.3 PDI em vírus	54
2.3 SÍNTESE DE PORFIRINAS	55
2.4 SÍNTESE DE DIPIRROMETANOS	57
2.5 ROTAS DE OBTENÇÃO DE PORFIRINAS <i>TRANS</i> -SUBSTITUÍDAS	59
2.6 SÍNTESE DE GLICOPORFIRINAS	61
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	65
3.1 MÉTODOS GERAIS	65
3.1.1 Purificação dos produtos	65
3.1.1.1 Cromatografia em camada delgada (sílica)	65
3.1.1.2 Cromatografia em coluna de sílica sob pressão (" <i>dry flash chromatography</i> ")	65
3.1.1.3 Cromatografia em coluna de alumina	65
3.1.2 Caracterização estrutural dos produtos	66
3.1.2.1 Ressonância magnética nuclear	66
3.1.2.2 Ionização por <i>eletrospray</i> acoplada à espectrometria de massa (ESIMS)	66
3.1.2.3 Ionização por dessorção de matriz assistida por laser acoplada a analisador de massas de tempo de voo (MALDI-TOF)	67



3.1.2.4 Espectrometria de massas de alta resolução (HRMS).....	67
3.1.2.5 Espectroscopia eletrônica de Ultravioleta-visível.....	67
3.1.2.6 Determinação da rotação óptica .....	67
3.2 SÍNTESE DE DERIVADOS AÇÚCARES.....	68
3.2.1 Preparação da galactose dietilditioacetal ( <b>2</b> ).....	68
3.2.2 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-galactose dietilditioacetal ( <b>3</b> ).....	69
3.2.3 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-benzoil-D-galactose dietilditioacetal ( <b>4</b> )...	70
3.2.4 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-benzil-D-galactose dietilditioacetal ( <b>5</b> ).....	71
3.2.5 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-metil-D-galactose dietilditioacetal ( <b>6</b> ).....	72
3.2.6 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-glucose dietilditioacetal ( <b>8</b> ).....	73
3.2.7 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-manose dietilditioacetal ( <b>10</b> ).....	74
3.2.8 Preparação da 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,5,6-tetra-O-acetil-D-glucose dietilditioacetal ( <b>12</b> ).....	74
3.2.9 Preparação da 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,5-di-O-acetil-3,6-anidro-L-galactose dietil ditioacetal ( <b>15</b> ).....	75
3.2.10 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-galactose <i>aldeído</i> ( <b>16</b> ).....	76
3.2.11 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-benzoil-D-galactose <i>aldeído</i> ( <b>17</b> ).....	77
3.2.12 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-benzil-D-galactose <i>aldeído</i> ( <b>18</b> ).....	77
3.2.13 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-metil-D-galactose <i>aldeído</i> ( <b>19</b> ).....	78
3.2.14 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-glucose <i>aldeído</i> ( <b>20</b> ).....	78
3.2.15 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-manose <i>aldeído</i> ( <b>21</b> ).....	79
3.2.16 Preparação da 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,5,6-tetra-O-acetil-D-glucose <i>aldeído</i> ( <b>22</b> ).....	79
3.2.17 Preparação da 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,5-di-O-acetil-3,6-anidro-L-galactose <i>aldeído</i> ( <b>23</b> ).....	80
3.2.18 Otimização da síntese do 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol ( <b>24</b> ).....	80
3.2.19 Síntese do 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol ( <b>24</b> )..	81
3.2.20 Síntese do 2,3,4,5,6-penta-O-benzoil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol ( <b>25</b> ).....	82
3.2.21 Síntese do 2,3,4,5,6-penta-O-benzil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol ( <b>26</b> )..	83
3.2.22 Síntese do 2,3,4,5,6-penta-O-metil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol ( <b>27</b> )...	84
3.2.23 Síntese do 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-glucitol ( <b>28</b> ).....	85

3.2.24 Síntese do 2,3,4,5,6-penta- O-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-manitol ( <b>29</b> )....	86
3.2.25 Síntese do 2,3,4,6-tetra- O-acetil-β-D-galactopiranosil-(1→4)-2,3,5,6-tetra- O-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-glucitol ( <b>30</b> ).....	87
3.2.26 Preparação do 2,3,4,6-tetra- O-acetil-β-D-galactopiranosil-(1→4)-2,5-di- O-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-3,6-anidro-L-galactitol ( <b>31</b> ).....	88
3.3 SÍNTESE DE DERIVADOS PORFIRÍNICOS.....	89
3.3.1 Otimização da síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta- O-acetil-D-lixitol)]porfirina ( <b>32</b> ).....	89
3.3.2 Otimização da síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''E)-1''-enil-3'',4'',5''-tri- O-acetil-D-lixitol]-20-[1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta- O-acetil-D-lixitol]porfirina ( <b>33</b> ).....	90
3.3.3 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta- O-acetil- D-lixitol)]porfirina ( <b>32</b> ); da 5, 10, 15-[tris(fenil)]-20-[1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta- O-acetil-D-lixitol]porfirina ( <b>32a</b> ) e da 5-fenil-10, 15, 20-[tris(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta- O-acetil-D-lixitol)]porfirina ( <b>32b</b> ).....	91
3.3.4 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''E)-1''-enil-3'',4'',5''-tri- O-acetil-D-lixitol]-20-[1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta- O-acetil-D-lixitol]porfirina ( <b>33</b> ).....	92
3.3.5 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta- O-acetil- D-xilitol)]porfirina ( <b>34a</b> ) e 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''E)-1''-enil-3'',4'',5''-tri- O-acetil-D-xilitol]-20-(1'-C,1'S)-1',2',3',4',5'-penta- O-acetil-D-xilitol]porfirina ( <b>34b</b> ).....	94
3.3.6 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'C-(1'R)-1',2',3',4',5'-penta- O-acetil-D-arabinitol)]porfirina ( <b>35a</b> ) 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''E)-1''-enil-3'',4'',5''-tri- O-acetil-D-arabinitol]-20-[1'-C-(1'R)-1',2',3',4',5'-penta- O-acetil-arabinitol]porfirina ( <b>35b</b> ).....	96
3.3.7 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',5'-tetra- O-acetil-3'-(2'',3'',4'',6''-tetra- O-acetil-1'''- O-β-D-galactopiranosil)-D-xilitol)]porfirina ( <b>36a</b> ) e 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''E)-1''-enil-3''-(2'',3'',4'',6''-tetra- O-acetil-1'''- O-β-D-galactopiranosil)-5'',6''-di- O-acetil-D-xilitol]-20-[1'-C-(1'S)-1',2',3',5'-tetra- O-acetil-3'-(2'',3'',4'',6''-tetra- O-acetil-1'''- O-β-D-galactopiranosil)-D-xilitol]porfirina ( <b>36b</b> ).....	98

3.3.8 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'R)-1',4'-di-O-acetil-2',5'-anidro-3'-(2'',3'',4'',6'')-tetra-O-acetil-1''-O-β-D-galactopiranosil)-D-lixitol]]porfirina (37).....	100
3.3.9 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-benzoil-D-lixitol)]porfirina (38a) e síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''E)-1''-enil-3'',4'',5''-tri-O-benzoil-D-lixitol]-20-[1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-benzoil-D-lixitol]]porfirina (38b).....	101
3.3.10 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-benzil-D-lixitol)]porfirina (39).....	102
3.3.11 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-metil-D-lixitol)]porfirina (40).....	103
3.3.12 Otimização da síntese da 5,15-[bis(4-piridil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (41).....	104
3.3.13 Síntese da 5,15-[bis(4-piridil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (41).....	105
3.3.14 Otimização de síntese da 5,15-[bis(pentafluorfenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (42).....	106
3.3.15 Síntese da 5,15-[bis(pentafluorfenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (42).....	107
3.3.16 Síntese da 5,15-[bis(2,3,5,6-tetrafluor-4-(4-piridilsulfonil)fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (43).....	108
3.3.17 Síntese do diiodeto de 5,15-[bis(2,3,5,6-tetrafluor-4-(N-metilpiridínio-4-ilsulfonil)fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (44).....	109
3.3.18 Síntese da 5,15-[bis(2,3,4,5,6-pentafluorfenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]-12, 13-[(c)-(N-metil-pirrolidinil)]clorina (45)...	110
3.3.19 Tentativa de síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]-12, 13-[(c)-(N-metil-pirrolidinil)]clorina (46).....	111
3.3.20 Síntese da 5,15-[bis(2,3,5,6-tetrafluor-4-(4-piridilsulfonil)fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]-12, 13-[(c)-(N-metil-pirrolidinil)]clorina (47).....	112
3.3.21 Síntese do triiodeto de 5,15-[bis(2,3,5,6-tetrafluor-4-(N-metilpiridínio-4-ilsulfonil)fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]-12,13-	

[(c)-(N,N-dimetil-pirrolidinio-1-il)]clorina ( <b>48</b> ).....	113
3.3.22 Condições testadas de desacetilação para a obtenção da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-D-lixitol)]porfirina ( <b>49</b> ).....	114
3.3.23 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-D-lixitol)]porfirina ( <b>49</b> ).....	115
3.3.24 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-D-xilitol)]porfirina ( <b>50</b> ).....	116
3.3.25 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'R)-D-arabinitol)]porfirina ( <b>51</b> ).....	117
3.3.26 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-3'-(1''-O-β-D-galactopiranosil-D-xilitol)]porfirina ( <b>52</b> ).....	118
3.3.27 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'R)-2',5'-anidro-3'-(1''-O-β-D-galactopiranosil)-D-lixitol)]porfirina ( <b>53</b> ).....	119
3.4 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO QUÂNTICO DE OXIGÊNIO SINGLETE.....	120
3.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL <i>IN VITRO</i> DAS GLICOPORFIRINAS.....	120
3.5.1 Cultura celular.....	120
3.5.2 Condições experimentais e irradiação .....	121
3.5.3 Viabilidade celular.....	122
3.5.4 Determinação da concentração intracelular dos derivados porfirínicos.....	122
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	123
4.1 SÍNTESE DOS BLOCOS ESTRUTURAIS GLICÍDICOS.....	123
4.1.1 Síntese dos derivados glicosídeos dietilditioacetil.....	123
4.1.2 Síntese dos glicodipirrometanos.....	131
4.2 OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DAS GLICOPORFIRINAS <b>32</b> e <b>33</b> .....	138
4.3 APLICAÇÃO DO PROCESSO DE SÍNTESE OTIMIZADO PARA A OBTENÇÃO DE GLICOPORFIRINAS A PARTIR DOS DIPIRROMETANOS <b>24</b> , <b>28</b> , <b>29</b> , <b>30</b> E <b>31</b> .....	149
4.4. SÍNTESE DE GLICOPORFIRINAS CATIÔNICAS.....	176
4.5 SÍNTESE DE CLORINAS.....	184
4.6 DESPROTEÇÃO DAS HIDROXILAS DAS GLICOPORFIRINAS O-ACETILADAS.....	188
4.7 ESTUDOS FOTOFÍSICOS.....	191
4.7.1 Determinação do rendimento quântico de <sup>1</sup> O <sub>2</sub> .....	191

4.8 ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	196
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>201</b>
<b>6. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>203</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>204</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>218</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Numeração do macrociclo porfirínico segundo Fischer (A) e a IUPAC (B).....	38
<b>Figura 2:</b> Derivados porfirínicos reduzidos .....	39
<b>Figura 3:</b> Espectro de UV-vis característico de porfirinas.....	40
<b>Figura 4:</b> (a) Diagrama de Jablonski modificado (b) Orbitais moleculares do estado triplete e singleto do oxigênio molecular.....	42
<b>Figura 5:</b> Estrutura química de alguns fotossensibilizadores utilizados na PDT.....	46
<b>Figura 6:</b> Estrutura química de alguns fotossensibilizadores utilizados na PDI.....	50
<b>Figura 7:</b> Estrutura da parede celular das bactérias Gram (+) e Gram (-).....	52
<b>Figura 8:</b> Mapa de correlação direta $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ do composto <b>24</b> .....	135
<b>Figura 9:</b> Mapa de correlação direta $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ do composto <b>24</b> .....	136
<b>Figura 10:</b> Espectro de massa da glicoporfirina <b>32a</b> (porfirina $\text{A}_3\text{B}$ ).....	140
<b>Figura 11:</b> Espectro de massa da glicoporfirina <b>32b</b> (porfirina $\text{AB}_3$ ).....	141
<b>Figura 12:</b> Glicoporfirina assimétrica <i>meso</i> - $\alpha,\beta$ -insaturada ( <b>33</b> ).....	143
<b>Figura 13:</b> Estruturas químicas dos diferentes grupos protetores utilizados na síntese de porfirinas análogas às porfirinas <b>32</b> e <b>33</b> .....	147
<b>Figura 14:</b> Comparação dos espectros de RMN de $^1\text{H}$ dos compostos <b>33</b> e <b>35b</b> . .....	150
<b>Figura 15:</b> Espectro de UV-vis característico de porfirinas.....	155
<b>Figura 16:</b> Comparação dos espectros de UV-vis dos compostos <b>32</b> e <b>33</b> .....	156
<b>Figura 17:</b> Comparação dos espectros de UV-vis dos compostos <b>38</b> e <b>38b</b> .....	157
<b>Figura 18:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ expandido do composto <b>32</b> em $\text{CDCl}_3$ a $30^\circ\text{C}$ .....	158
<b>Figura 19:</b> Mapa de correlação direta $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ do composto <b>32</b> .....	159
<b>Figura 20:</b> Mapa de correlação direta $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ do composto <b>32</b> .....	160
<b>Figura 21:</b> Representação esquemática da porfirina <b>32</b> , destacando-se sua simetria $\text{C}_2$ .....	161
<b>Figura 22:</b> Região dos hidrogênios $\beta$ -pirrólicos do espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>32</b> .....	162

<b>Figura 23:</b> Experimento de RMN NOE monodimensional da porfirina <b>32</b> .....	163
<b>Figura 24:</b> Distorção do anel porfirínico nas conformações <i>saddle</i> ( <i>Ts1</i> e <i>Ts2</i> ) e <i>ruffled</i> ( <i>Tr1</i> e <i>Tr2</i> ).....	164
<b>Figura 25:</b> Representação esquemática dos possíveis atropoisômeros de uma porfirina A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> contendo grupos volumosos nas posições <i>meso</i> opostas do anel porfirínico: atropoisômero αβ e atropoisômero αα.....	165
<b>Figura 26:</b> Espectro expandido de RMN de <sup>1</sup> H (região de hidrogênios β-pirrólicos, parte dos hidrogênios aromáticos e H-1' das porções açúcar) da porfirina <b>32</b> , a 30°C, em diferentes solventes.....	166
<b>Figura 27:</b> Espectro expandido de RMN de <sup>1</sup> H (DMSO-d <sub>6</sub> ) da região dos H-β pirrólicos em diferentes temperaturas.....	168
<b>Figura 28:</b> Espectro expandido de RMN de <sup>1</sup> H (DMSO-d <sub>6</sub> ) das regiões de H-β e H-β' pirrólicas, H-fenil e H-porções açúcar da porfirina <b>32</b> em diferentes temperaturas.....	169
<b>Figura 29:</b> Secções do espectro expandido de RMN de <sup>1</sup> H da porfirina <b>32</b> (25 °C, DMSO-d <sub>6</sub> ) das regiões de (A) H-β pirrólicos (próximos às porções açúcar), (B) H-1' das porções açúcar e (C) H-2' e H-3' das porções açúcar.....	171
<b>Figura 30:</b> Representação esquemática dos quatro prováveis confômeros propostos para porfirina <b>32</b> em DMSO-d <sub>6</sub> a 25 °C.....	173
<b>Figura 31:</b> Mapas de correlação espacial <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H (NOESY) do composto <b>32</b> em DMSO-d <sub>6</sub> a 25 °C.....	174
<b>Figura 32:</b> Formas tautoméricas do macrociclo porfirínico.....	175
<b>Figura 33:</b> Comparação dos espectros de UV-vis da porfirina <b>43</b> e clorinas <b>45a</b> e <b>45b</b> em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> .....	184
<b>Figura 34:</b> Fotografia de uma CCD preparativa da purificação da reação entre a porfirina <b>42</b> e o ileto de azometino.....	186
<b>Figura 35:</b> Espectro de UV-vis da reação entre a porfirina <b>32</b> e ileto de azometino.....	187
<b>Figura 36:</b> Fotografia de CCD das reações de desacetilações.....	191
<b>Figura 37:</b> Reação entre o DFIBF e <sup>1</sup> O <sub>2</sub> demonstrando a formação do endoperoxídeo.....	192
<b>Figura 38:</b> Estrutura química dos compostos testados nas células UM-MC-3.....	197

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Características de alguns fotossensibilizadores utilizados na PDT.....	45
<b>Tabela 2:</b> Condições experimentais para a síntese do glico-diprrrometano <b>24</b> .....	133
<b>Tabela 3:</b> Condições experimentais para a síntese da glicoporfirina <b>32</b> .....	139
<b>Tabela 4:</b> Condições experimentais para a síntese da glicoporfirina <b>33</b> .....	145
<b>Tabela 5:</b> Condições experimentais para a síntese da porfirina <b>41</b> .....	178
<b>Tabela 6:</b> Condições experimentais da otimização de síntese da porfirina <b>43</b> .....	183
<b>Tabela 7:</b> Rendimentos quânticos de oxigênio singlete ( $\Phi_{\Delta}$ ).....	195



## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1:</b> Síntese de C-glicoporfirinas.....	49
<b>Esquema 2:</b> Processos de síntese de porfirinas <i>meso</i> -substituídas.....	55
<b>Esquema 3:</b> As três maneiras de se obter dipirrometanos.....	58
<b>Esquema 4:</b> Obtenção de porfirinas $A_2B_2$ <i>via</i> reação do pirrol com a mistura de dois aldeídos.....	59
<b>Esquema 5:</b> Síntese de porfirinas $A_2B_2$ <i>via</i> reação do pirrol com dipirrometanos.	60
<b>Esquema 6:</b> Síntese de porfirinas $A_2B_2$ <i>via</i> autocondensação de um monocarbinol-dipirrometano.....	60
<b>Esquema 7:</b> Síntese de porfirinas $A_2B_2$ <i>via</i> autocondensação de um 1-acildipirrometano.....	60
<b>Esquema 8:</b> Síntese dos derivados glicodipirrometanos.....	62
<b>Esquema 9:</b> Síntese dos derivados glicoporfirínicos <b>17-22</b> .....	63
<b>Esquema 10:</b> Exemplo de síntese de tetra-C-glicoporfirinas.....	64
<b>Esquema 11:</b> A: Formas de equilíbrio de uma aldohexose (neste caso, a galactose <b>1</b> ) em solução. B: Mecanismo de formação dos derivados dietilditioacetais a partir de um açúcar.....	124
<b>Esquema 12:</b> Mecanismo de acetilação dos derivados glicídicos na presença de piridina e anidrido acético.....	125
<b>Esquema 13:</b> Síntese dos compostos <b>3, 8, 10, 12 e 15</b> .....	127
<b>Esquema 14:</b> Síntese dos compostos <b>4, 5 e 6</b> .....	128
<b>Esquema 15:</b> Mecanismo de benzoilação da galactose dietilditioacetal na presença de piridina e DMAP (dimetilaminopiridina). O mecanismo mostrado compreende uma substituição em carbono carbonílico de derivado de ácido carboxílico.....	129
<b>Esquema 16:</b> Mecanismo de benzilação da galactose dietilditioacetal na presença de brometo de benzila e hidreto de sódio. O mecanismo mostrado compreende uma substituição nucleofílica bimolecular ( $S_N2$ ).....	130
<b>Esquema 17:</b> Mecanismo de metilação da galactose dietilditioacetal na presença de hidróxido de sódio e iodeto de metila.....	131
<b>Esquema 18:</b> Síntese dos glicodipirrometanos a partir dos derivados	

dietilditioacetal.....	132
<b>Esquema 19:</b> Mecanismo de reação para a formação do dipirrometano.....	133
<b>Esquema 20:</b> Síntese dos compostos <b>24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 e 31</b> .....	137
<b>Esquema 21:</b> Reação entre a o dipirrometano <b>24</b> e benzaldeído.....	138
<b>Esquema 22:</b> Dois processos que levam ao “scrambling”: acidólise e recombinação de fragmentos.....	142
<b>Esquema 23:</b> Os três possíveis tipos de oligômeros formados na condensação do dipirrometano + aldeído.....	143
<b>Esquema 24:</b> Síntese de glicoporfirinas <b>38a, 38b, 39 e 40</b> utilizando TFA como catalisador.....	148
<b>Esquema 25:</b> Síntese de glicoporfirinas <b>32, 33, 34a, 34b, 35a e 35b</b> utilizando $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$ como catalisador.....	151
<b>Esquema 26:</b> Síntese de glicoporfirinas <b>36a, 36b e 37</b> utilizando $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$ como catalisador.....	152
<b>Esquema 27:</b> Síntese de glicoporfirinas <b>32, 33, 34a, 34b, 35a e 35b</b> utilizando TFA como catalisador.....	153
<b>Esquema 28:</b> Síntese de glicoporfirinas <b>36a, 36b e 37</b> utilizando TFA como catalisador.....	154
<b>Esquema 29:</b> Possibilidade de síntese de uma porfirina catiônica a partir do dipirrometano e 4-piridina carboxialdeído.....	176
<b>Esquema 30:</b> Rota de síntese da porfirina catiônica <b>44</b> a partir do dipirrometano <b>24</b> e o pentafluorobenzaldeído.....	180
<b>Esquema 31:</b> Síntese da glicoporfirina catiônica <b>44</b> .....	182
<b>Esquema 32:</b> Formação de clorinas a partir da reação da porfirina e ileto de azometino.....	185
<b>Esquema 33:</b> Síntese de clorina <b>45</b> a partir da reação entre a porfirina <b>42</b> e ileto de azometino.....	186
<b>Esquema 34:</b> Tentativa de síntese da clorina <b>46</b> a partir da reação entre a porfirina <b>32</b> e ileto de azometino.....	187
<b>Esquema 35:</b> Síntese da clorina catiônica <b>47</b> .....	188
<b>Esquema 36:</b> Desacetilações dos compostos <b>34a, 35a, 36a e 37</b> .....	190

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1:</b> Gráfico do logaritmo natural da absorbância do DFIBF (y) <i>versus</i> tempo de irradiação (x) das porfirinas <b>32–40</b> e do padrão azul de metileno. Irradiação a 9 mW/cm <sup>2</sup> na faixa de comprimento de onda de 415 nm. DFIBF a 50 µmol/L; porfirinas e azul de metileno a 0,5 µmol/L em DMF/H <sub>2</sub> O (9:1).....	193
<b>Gráfico 2:</b> Gráfico do logaritmo natural da absorbância do DFIBF (y) <i>versus</i> tempo de irradiação (x) das porfirinas <b>40</b> . Irradiação a 9 mW/cm <sup>2</sup> na faixa de comprimento de onda de 415 nm. DFIBF a 50 µmol/L; porfirinas a 0,5 µmol/L em DMF/SDS (9:1).....	194
<b>Gráfico 3:</b> Toxicidade dos compostos no escuro após um tempo de uptake de 4h, N=1, triplicados.....	197
<b>Gráfico 4:</b> Experimento de captação dos compostos durante um tempo de 4h...	198
<b>Gráfico 5:</b> Fototoxicidade dos compostos no escuro após um tempo de uptake de 4h, irradiação durante 40 min com luz branca, 8.4 mW/cm <sup>2</sup> , N=1, triplicados.	199

## LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**Ac:** Acetil

**ALA:** Ácido 5-aminolevulínico

**Bn:** Benzil

**Bz:** Benzoil

**Ce6:** clorina e6

**COSY:** Correlation Spectroscopy

**DDQ:** 2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona

**ESIMS:** Eletrospray Ionization Mass-Spectrometry

**EtSH:** Etanotiol

**FDA:** Food and Drug Administration

**HSQC:** Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy

**Hz:** Hertz

**J:** Constante de acoplamento

**LPS:** Lipopolissacarídeo

**MB:** Azul de metileno

**Me:** Metil

**MW:** Micro-ondas

**N<sub>2</sub>:** Gás nitrogênio

**NOE:** Nuclear Overhouser Effect

**NOESY:** Nuclear Overhouser Effect Spectroscopy

**Ph:** Fenil

**PDI:** Inativação Fotodinâmica

**PDT:** Terapia fotodinâmica

***p*-cloranil:** Tetracloro-1,4-benzoquinona

**RMN de <sup>13</sup>C:** Ressonância magnética nuclear de carbono

**RMN de <sup>1</sup>H:** Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

**T.a.:** Temperatura ambiente

**Tetra-Pi+Me:** 5,10,15,20-tetraquis(1-metilpiridínio-4-il) porfirina

**TFA:** ácido trifluoracético

**THF:** tetra-hidrofurano

**UV:** Ultravioleta

## RESUMO

As glicoporfirinas têm chamado a atenção nos últimos anos devido a potencial ação sítio-específica proporcionada pela porção glicídica destes compostos na terapia fotodinâmica (PDT) do câncer e na fotoinativação de micro-organismos (PDI). Uma das formas de ligação entre porfirinas e carboidratos consiste na formação de uma nova ligação carbono-carbono, dando origem a porfirinas do tipo C-alditol ou C-glicosídeo. Em geral, C-glicosídeos são reconhecidos por apresentar alta estabilidade frente a enzimas em meios biológicos. Este trabalho compreendeu o desenvolvimento de rotas sintéticas voltadas à obtenção de porfirinas C-alditol e C-glicosídeo *meso*-substituídas com potencial aplicação na PDT e PDI. Para tal, a abordagem sintética desenvolvida no presente trabalho envolveu o preparo de intermediários dietilditioacetil peracetilados (e outros grupos protetores) de três monossacarídeos (galactose, glucose e manose), um dissacarídeo (lactose) e um dissacarídeo derivado de polissacarídeo (agarose). Os derivados dietilditioacetais foram convertidos em dipirrometanos, sendo os mesmos empregados na síntese das porfirinas correspondentes. Foram avaliadas diferentes condições de síntese de porfirinas através da utilização de TFA ou  $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$  como catalisadores, e  $\text{SeO}_2$  ou DDQ como agentes oxidantes. Este estudo deu origem a 24 novas porfirinas C-alditol e C-glicosídeo *meso*-substituídas, nas quais incluem-se derivados apresentando diferentes grupos protetores na porção glicídica, diferentes grupos aromáticos (fenil, pentafluorofenil e piridil) ligados às posições *meso*, derivados neutros e catiônicos, e derivados C-alditol  $\alpha,\beta$ -insaturados. Ainda, quatro clorinas C-alditol foram sintetizadas. Parte das porfirinas sintetizadas foram submetidas a estudos conformacionais baseados em ressonância magnética nuclear (RMN) e estudos fotofísicos. Adicionalmente, comparou-se a atividade antitumoral de porfirinas acetiladas e desacetiladas frente às células UM-MC-3. As porfirinas testadas não apresentaram citotoxicidade na ausência de luz. Os resultados reportados neste trabalho mostraram a porfirina **49** (porfirina C-alditol desacetilada, derivada da galactose) como um agente terapêutico promissor no tratamento de câncer de bexiga por PDT.

**Palavras-chave:** Porfirinas, glicoporfirinas, terapia fotodinâmica, inativação fotodinâmica.

## ABSTRACT

Glycoporphyrins have become of interest because of the current effort to develop target-specific photosensitizers, which are promising in the photodynamic therapy (PDT) for cancer and in the photoinactivation of microorganisms (PDI). One of the forms of connecting porphyrins to carbohydrates is based on the formation of a new carbon-carbon bond, giving rise to compounds known as C-alditolporphyrins and C-glycoporphyrins. C-Glycosides are recognized by their high stability in biological media. The aim of this work was the development of synthetic routes to prepare *meso*-substituted C-alditolporphyrins and C-glycoporphyrins with potential application in PDT and PDI. For this purpose, the synthetic approach herein developed involved the preparation of hydroxy-protected diethyl dithioacetals intermediates from three monosaccharides (galactose, glucose and mannose), a disaccharide (lactose) and a disaccharide obtained from a polysaccharide (agarose). The diethyl dithioacetals derivatives were converted into dipyrranes, which were employed for the synthesis of the corresponding porphyrins. Different conditions of porphyrins synthesis were evaluated by using TFA or  $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$  as catalyst, and  $\text{SeO}_2$  or DDQ as oxidizing agent. This study allowed the synthesis of 24 new *meso*-substituted C-alditolporphyrins and C-glycoporphyrins, including derivatives presenting different hydroxy-protecting groups on the carbohydrate moiety, different aromatic groups (phenyl, pentafluorophenyl and pyridyl) attached to *meso* positions, neutral and cationic derivatives, and  $\alpha,\beta$ -unsaturated C-alditolporphyrins. Furthermore, four C-alditolchlorins could also be obtained. Part of the porphyrins synthesized were submitted to conformational studies based on nuclear magnetic resonance (NMR) and photophysical studies. In addition, the antitumor activity of the acetylated and deacetylated porphyrins on UM-MC-3 cells was evaluated. The porphyrins tested showed no cytotoxicity in the absence of light. The results reported herein indicated porphyrin **49** (deacetylated C-alditolporphyrin derived from galactose) as a promising therapeutic agent for the treatment of bladder cancer by PDT.

**Key-words:** Porphyrins, glycoporphyrins, photodynamic therapy, photodynamic inactivation.

## 1 INTRODUÇÃO

As porfirinas e seus derivados têm ocorrência natural e a sua existência é fundamental à vida. Pequenas modificações no macrociclo tetrapirrólico, núcleo básico das porfirinas, originam funções bioquímicas diversas. A principal função destes compostos na natureza é a coordenação com metais atuando como centros em eventos bioquímicos. Na respiração dos mamíferos, o grupo heme (protoporfirina IX complexada com ferro II) se liga reversivelmente ao oxigênio molecular, transportando-o desta forma por todo o corpo (por meio da hemoglobina). Outro exemplo de macrociclo tetrapirrólico é a clorofila (uma clorina, derivado reduzido das porfirinas), a qual é responsável pela absorção de luz utilizando a energia nela contida para a conversão de  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  em carboidratos e oxigênio. O íon metálico coordenado neste caso é o magnésio (MILGROW, 1997).

O grande interesse nas porfirinas sintéticas baseia-se na sua importância biológica e na possibilidade de serem aplicados em áreas distintas, como as de catálise química (LEE; HUPP, 2006; SIMONNEAUX *et al.*, 2006), catálise enzimática (MURAKAMI *et al.*, 1996), transportadores artificiais de oxigênio (KOMATSU *et al.*, 2005), sensores químicos (LEE; HUPP, 2006; PURRELLO; GURRIERI; LAUCERI, 1999) e na terapia fotodinâmica (TOMÉ *et al.*, 2005).

As porfirinas são tradicionalmente utilizadas como fotossensibilizadores na terapia fotodinâmica ("Photodynamic Therapy", PDT). A PDT tem sido utilizada no tratamento de certos tumores (YAMAMOTO *et al.*, 1999), psoríase (BOEHNCKE; ELSHORST-SCHMIDT; KAUFMANN, 2000), degeneração macular da retina (TOMÉ *et al.*, 2005), acne (ITOH *et al.*, 2001; ASHKENAZI *et al.*, 2003), artrite (TRAUNER; HASAN, 1996) e aterosclerose (ROCKSON *et al.*, 2000).

Um processo fotodinâmico envolve a administração de um fotossensibilizador seguindo-se da iluminação seletiva na lesão alvo com luz visível, o que desencadeia danos oxidativos e subsequente morte celular do alvo biológico (CALZAVARA-PINTON; VENTURINI; SALA, 2005). Tais alvos biológicos podem estar relacionados aos seres humanos, como células tumorais. Neste caso, o processo é denominado PDT. Quando os alvos se relacionam a micro-organismos, o processo é chamado de Inativação Fotodinâmica ("Photodynamic Inactivation", PDI). Contrariamente à PDT



para o tratamento do câncer, em que o fotossensibilizador é normalmente injetado na corrente sanguínea e acumula-se preferencialmente nas células tumorais, a PDI é realizada em infecções localizadas por entrega local do fotossensibilizador na área infectada, topicamente ou por instilação, ou injeção intersticial, ou ainda aerossol (HAMBLIN; HASAN, 2004). Assim, a PDI vem sendo utilizada na inativação de vários micro-organismos e vírus (TOMÉ *et al.*, 2005)

No mercado farmacêutico não existe um medicamento com todas as características ideais de um bom fotossensibilizador para PDT ou PDI. Deste modo, nos últimos anos vários têm sido os esforços para o desenvolvimento de novos métodos para converter porfirinas em derivados com características estruturais e espectroscópicas adequadas para a sua potencial aplicação. Assim, novos estudos de síntese vêm sendo realizados a fim de se obter novas classes de derivados porfirínicos. Esses novos produtos devem ser obtidos por metodologias de síntese inovadoras e também devem satisfazer os requisitos (anfifilicidade, não-citotoxicidade na ausência de luz e comportamento fotoquímico conducente à geração de oxigênio singlete em bom rendimento) exigidos a um novo candidato em avaliação através da PDT. Paralelamente, nas últimas décadas o aumento do conhecimento da área da Glicobiologia tem mostrado a importante função dos carboidratos em vários eventos de reconhecimento celular, tais como: desenvolvimento neuronal, crescimento tumoral, inflamação, invasão viral e fertilização. Nesse sentido, a pesquisa por novos compostos bioativos tem explorado a presença de porções glicídicas em classes de moléculas com reconhecida atividade farmacológica, como os heterociclos sintéticos.

Neste contexto, compostos conjugados de porfirinas-carboidratos, os derivados glicoporfirínicos, têm despertado interesse na área da terapêutica devido ao recente esforço voltado ao desenvolvimento de fotossensibilizadores com ação alvo-específica, os quais são particularmente promissores no tratamento do câncer. A porção açúcar presente nestes compostos é supostamente relacionada a interações específicas mediadas pelas hidroxilas estericamente orientadas, as quais podem interagir seletivamente com as cavidades de receptores de membrana presentes em células tumorais. Assim, os danos promovidos pela PDT podem ser direcionados a células malignas, poupando as células saudáveis presentes no tecido afetado. Além disso, estes compostos tendem a exibir propriedades

farmacocinéticas superiores às porfirinas hidrofóbicas, devido a sua anfifilicidade (PANDEY; DOUGHERTY, 2005; PEREIRA *et al.*, 2014).

Dentre as estratégias sintéticas disponíveis para a obtenção de glicoporfirinas, aquelas focadas na preparação de derivados C-glicosídeos apresentam-se em evidência. Isto deve-se ao fato de que a ligação carbono-carbono que une a porção glicídica e a porção porfirínica de uma C-glicoporfirina, tipicamente apresenta resistência enzimática aumentada em meio biológico. Existem vários estudos relatados na literatura envolvendo a síntese de C-glicoporfirinas. Entretanto, somente a inserção de porções glicídicas derivadas de aldoses monossacarídicas comuns (D-glucose, D-galactose, D- e L-arabinose, D-xilose e D-eritrose) já foram reportadas, resultando na falta de exemplos de C-glicoporfirinas obtidas a partir de oligossacarídeos ou açúcares raros. Considerando que resíduos glicídicos incomuns (como anidroaçúcares e L-galactose) podem proporcionar interações específicas com células tumorais, e que porções oligossacarídicas ligam-se com constante de ligação superior a proteínas tumorais (e. g. galectinas), a obtenção destes exemplos de C-glicoporfirinas é de grande interesse. Além disso, a avaliação da atividade fotodinâmica antitumoral, a qual já se mostrou promissora em relação a O-glicoporfirinas e N-glicoporfirinas, vem sendo reportada na literatura. Entretanto, apenas um trabalho reportou estudos empregando C-glicoporfirinas com este enfoque (VEDACHALAM *et al.*, 2011).

Ainda, de acordo com a literatura da área, bactérias Gram-positivas são eficientemente fotoinativadas por uma grande variedade de porfirinas. Porém as bactérias Gram-negativas são resistentes à ação de fotossensibilizadores neutros, assim como diversos tipos de fungos. Entretanto, porfirinas catiônicas têm se mostrado eficientes na fotoinativação tanto de bactérias Gram-negativas quanto de fungos. Também é importante destacar que existem poucos exemplos na literatura de glicoporfirinas catiônicas, sendo inexistentes exemplos de C-glicoporfirinas contendo grupos positivamente carregados. Deste modo, torna-se importante a obtenção de novos derivados porfirínicos catiônicos, particularmente glico-derivados, que podem apresentar eficiência aumentada frente a diversos tipos de micro-organismos

Com base nos fatos acima descritos, o presente estudo apresenta a obtenção sintética de glicoporfirinas *meso*-substituídas dos tipos C-alditol e C-glicosídeo. Para tal, foram empregados como materiais iniciais de síntese três monossacarídeos (glucose, galactose e manose) e um dissacarídeo (lactose), os quais compreendem açúcares comercialmente disponíveis. Além disso, foi empregado o produto de hidrólise da agarose (um polissacarídeo de algas marinhas). O produto de hidrólise obtido (agarobiose) corresponde a um dissacarídeo contendo uma unidade de açúcar raro (L-3,6-anidrogactose).

De modo geral, a estratégia de síntese desenvolvida baseou-se na preparação prévia de glicodipirrometanos a partir dos carboidratos iniciais mencionados. Devido à rota sintética empregada, o carbono-1 (aldeído ou hemiacetal) dos açúcares empregados foi transformado no carbono que une as duas unidades pirrólicas dos dipirrometanos sintetizados. Estes C-1-desoxialditol ou C-1-glicosídeo dipirrometanos, por sua vez, foram empregados em reações de ciclocondensação-oxidação frente a diferentes aldeídos aromáticos, para dar origem as glicoporfirinas desejadas. Algumas particularidades relacionadas aos materiais iniciais utilizados determinaram que os dipirrometanos e porfirinas derivadas dos carboidratos comerciais fossem obtidas na forma de derivados C-alditol (porção açúcar na forma não cíclica). Já os derivados da agarobiose apresentaram-se como C-glicosídeos. A estratégia sintética desenvolvida permitiu a obtenção de uma gama C-glicoporfirinas mono- ou oligossacarídicas, neutras ou catiônicas. Ainda foi possível a obtenção de alguns derivados do tipo clorina por meio de reações de cicloadição 1,3-dipolar, envolvendo um íleto de azometino frente a porfirinas contendo o grupo pentafluorfenil.

O presente estudo também possibilitou o estabelecimento de uma forma obtenção de C-alditol porfirinas apresentando uma insaturação na porção glicídica, sendo que esta dupla ligação encontra-se conjugada ao anel porfirínico (C-alditol porfirinas  $\alpha,\beta$ -insaturadas). A presença deste tipo insaturação está relacionada com a presença de bandas de absorção deslocadas para região do vermelho do espectro visível do macrociclo. Macrociclos tetrapirrólicos que apresentam este comportamento fotofísico são candidatos promissores à PDT, uma vez que a radiação nesta faixa do espectro apresenta maior penetração nos tecidos corporais.

A grande maioria das porfirinas sintetizadas neste trabalho apresentou espectros de RMN que indicavam que as mesmas apresentavam-se como uma mistura de conformeros em solução. Por esse motivo, estudos baseados em RMN em diferentes temperaturas, NOE e NOESY foram empregados para um melhor entendimento relacionado à interconversão entre os conformeros observados. Algumas destas porfirinas também foram avaliadas quanto aos seus aspectos fotofísicos (estudo do espectro eletrônico e produção de oxigênio singlete) e em relação a atividade antitumoral frente a células de câncer de bexiga (UM-MC-3).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Sintetizar de C-glicoporfirinas (porfirinas C-alditol e C-glicosídeo) e avaliar suas propriedades conformacionais, fotofísicas e fotodinâmica antitumoral.

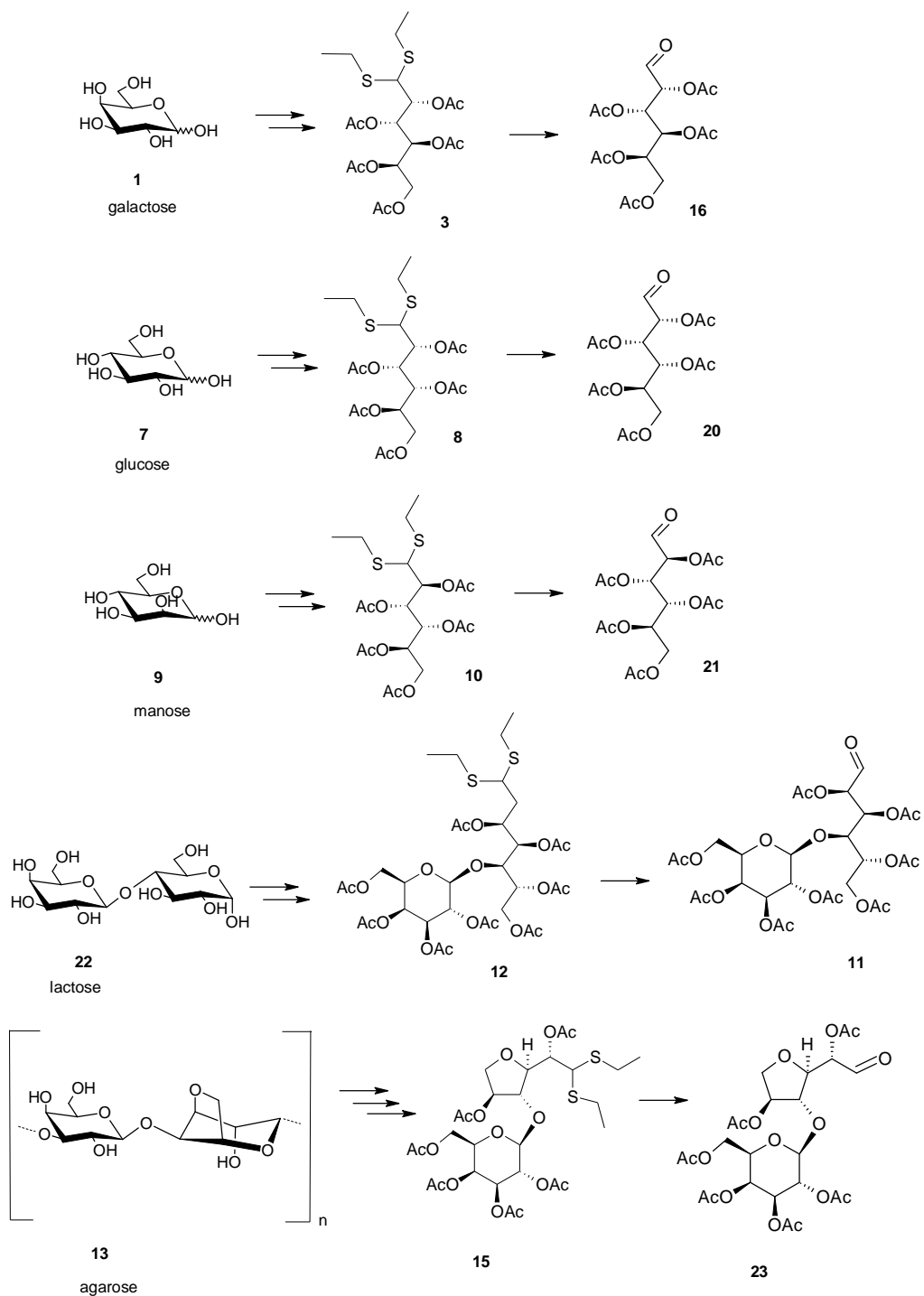
### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Preparar materiais iniciais glicídicos para síntese de glicoporfirinas: açúcares peracetilados, glicosídeos aldeídos e glico-dipirrometanos.
- Determinar condições de reação entre glicodipirrometanos e diferentes aldeídos aromáticos para a geração das C-glicoporfirinas.
- Estudar modificações químicas sobre as C-glicoporfirinas obtidas para a obtenção de derivados catiônico e derivados do tipo clorina.
- Estudar propriedades fotofísicas e conformacionais das C-glicoporfirinas obtidas.
- Através da PDT, avaliar as propriedades antitumorais *in vitro* frente a células de câncer de bexiga das C-glicoporfirinas obtidas.

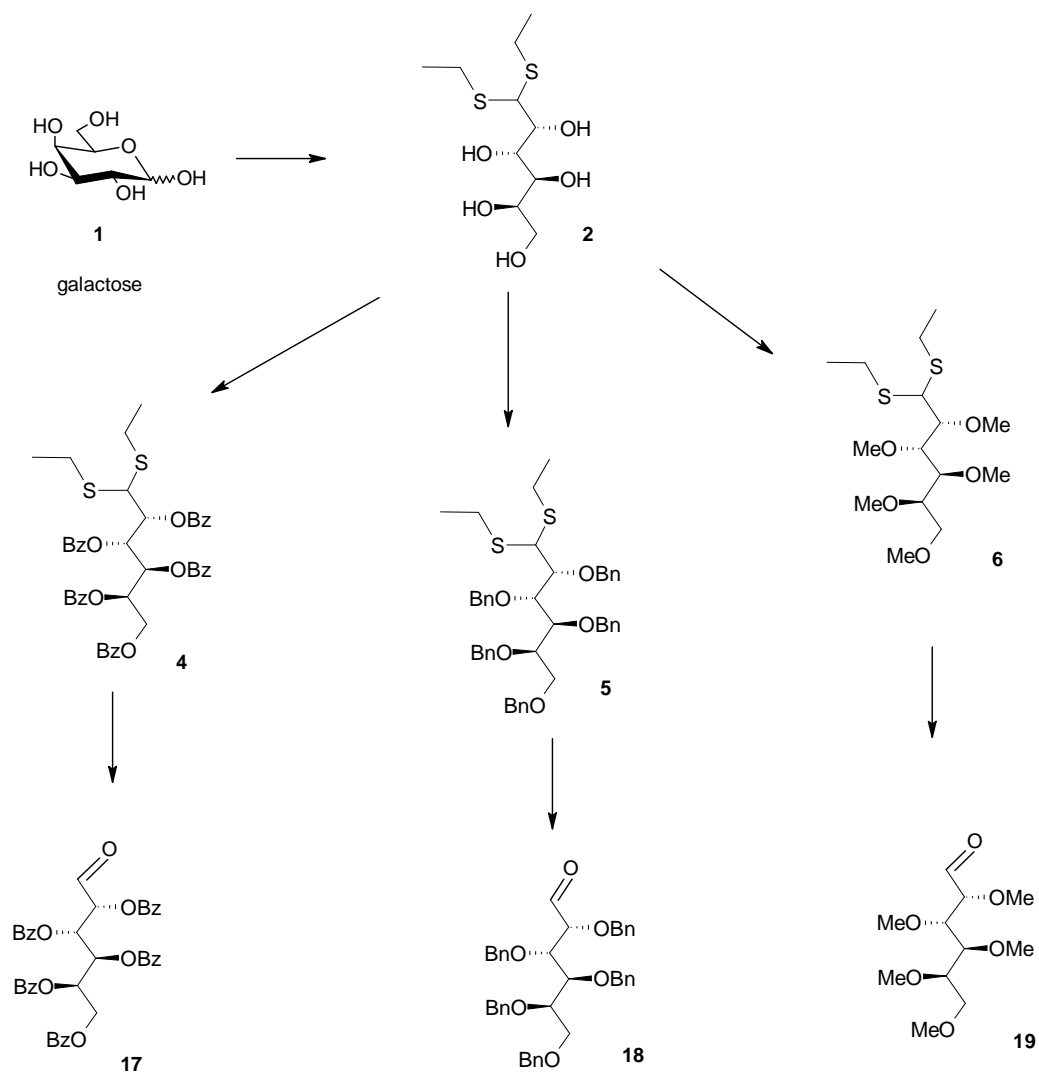
Os esquemas mostrados abaixo representam as estratégias de síntese empregadas para obtenção das glicoporfirinas preparadas neste trabalho.

(a) Síntese dos derivados dietilditioacetato, aldeídos e dipirrometanos para síntese de novas glicoporfirinas.

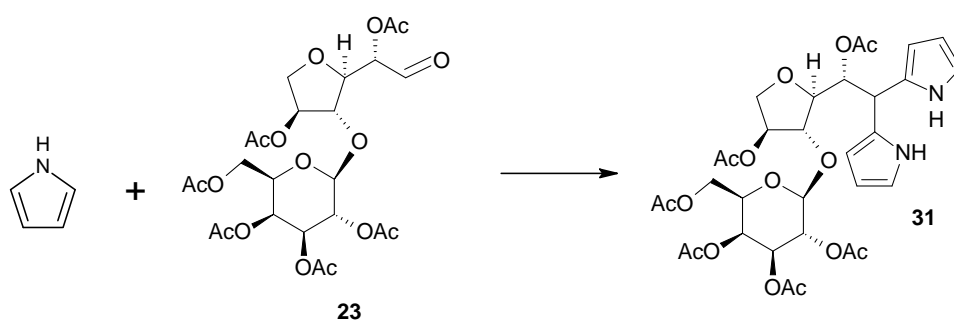
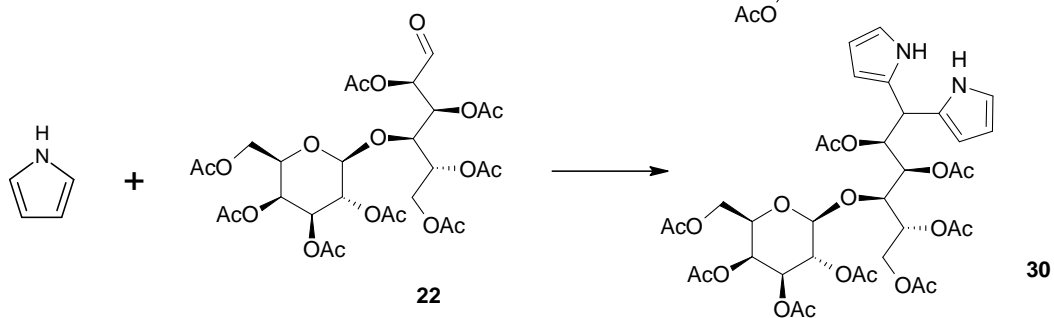
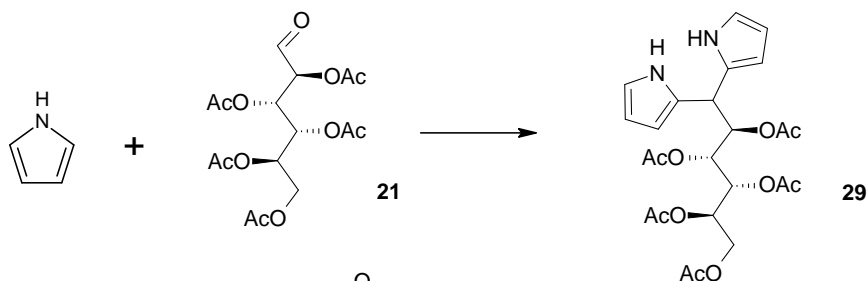
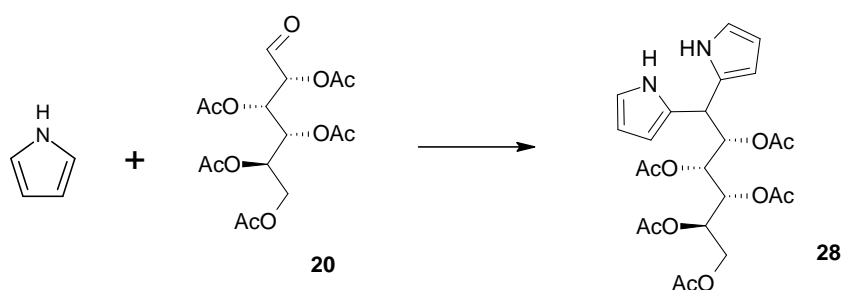
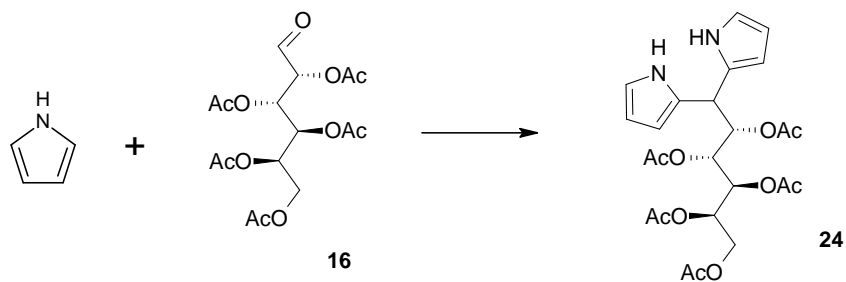
(a.1) Síntese dos glicoaldeídos peracetilados.



(a.2) Síntese dos glicoaldeídos com diferentes grupos protetores (glicoaldeídos perbenzoilados, perbenzilados e permetilados).

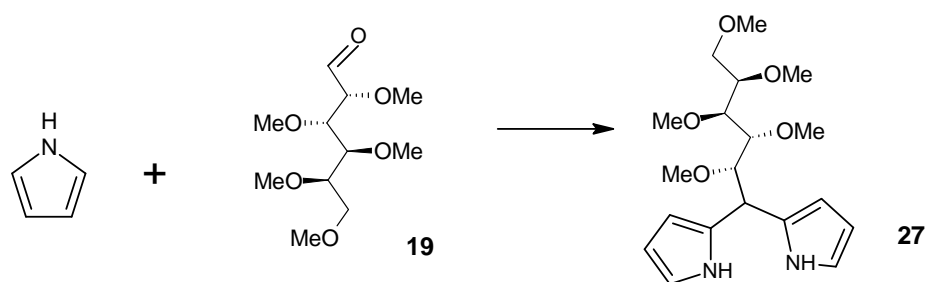
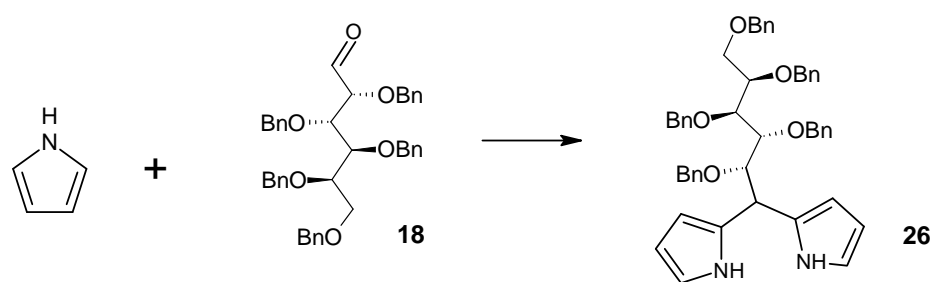
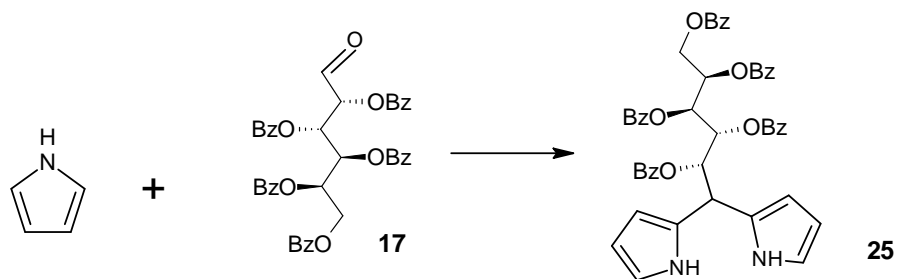


## (a.3) Síntese dos glicodipirrometanos peracetilados.

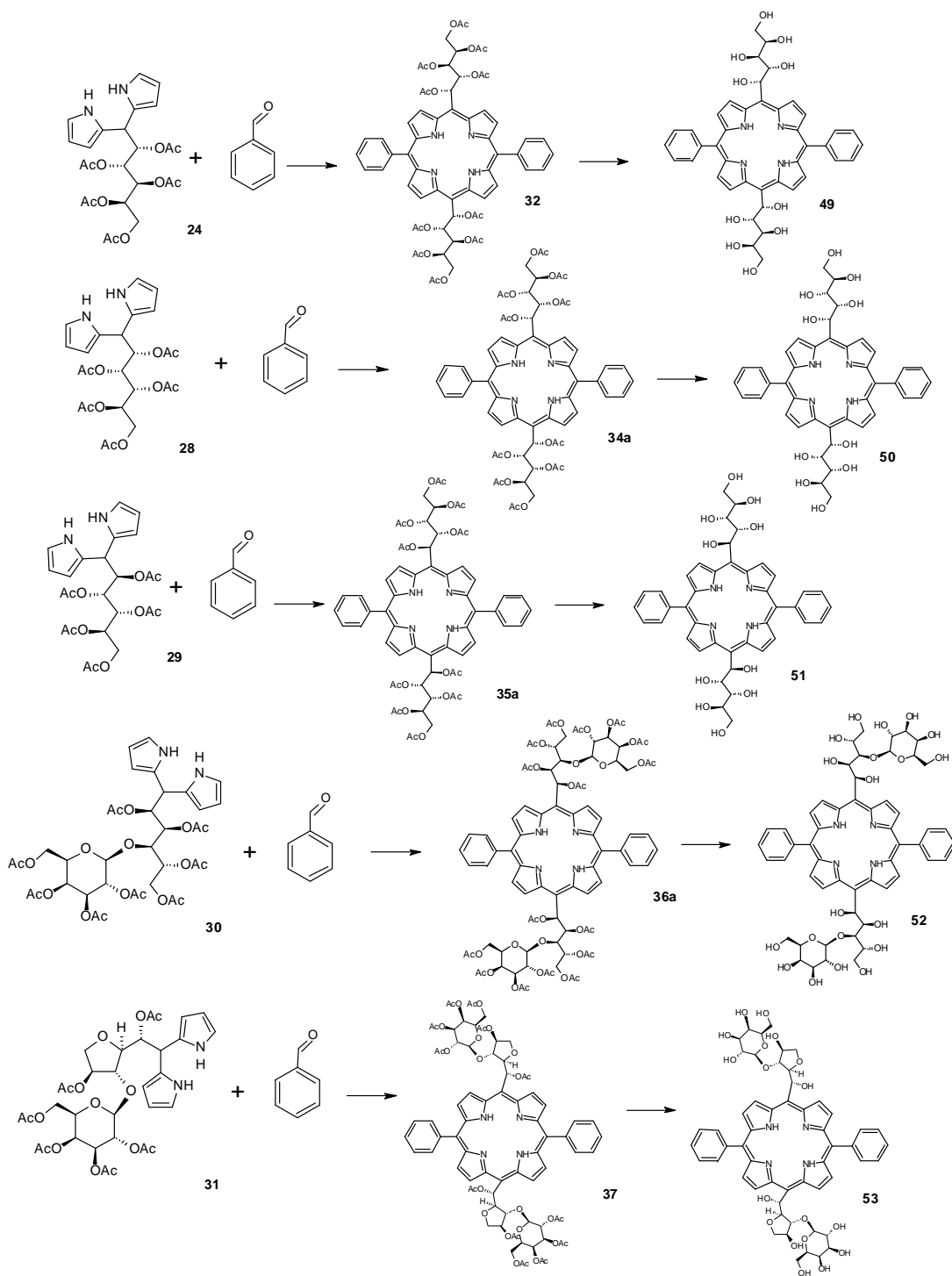




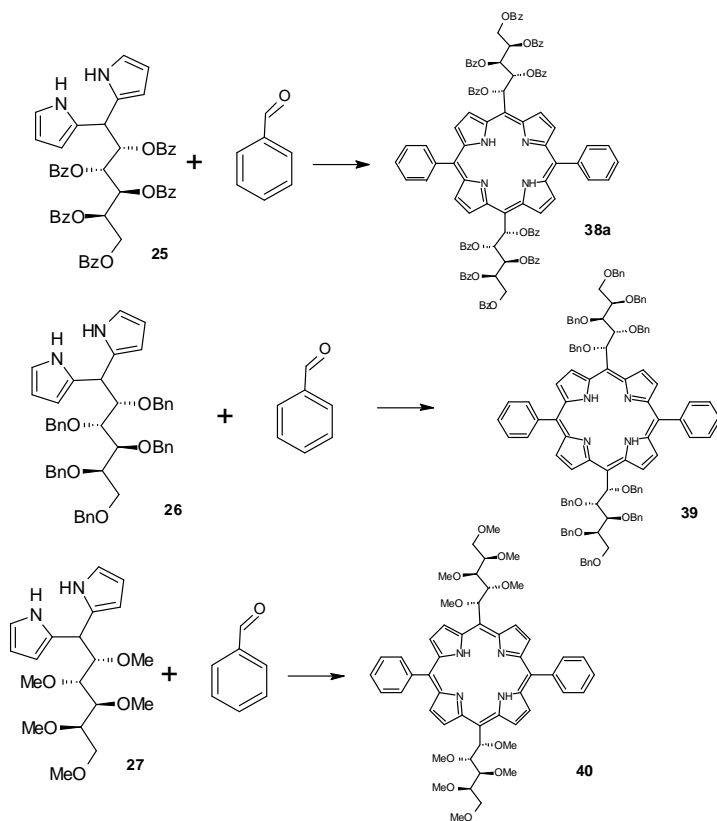
(a.4) Síntese dos glico-dipirrometanos com diferentes grupos protetores (glico-dipirrometanos perbenzoilados, perbenzilados e permetilados).



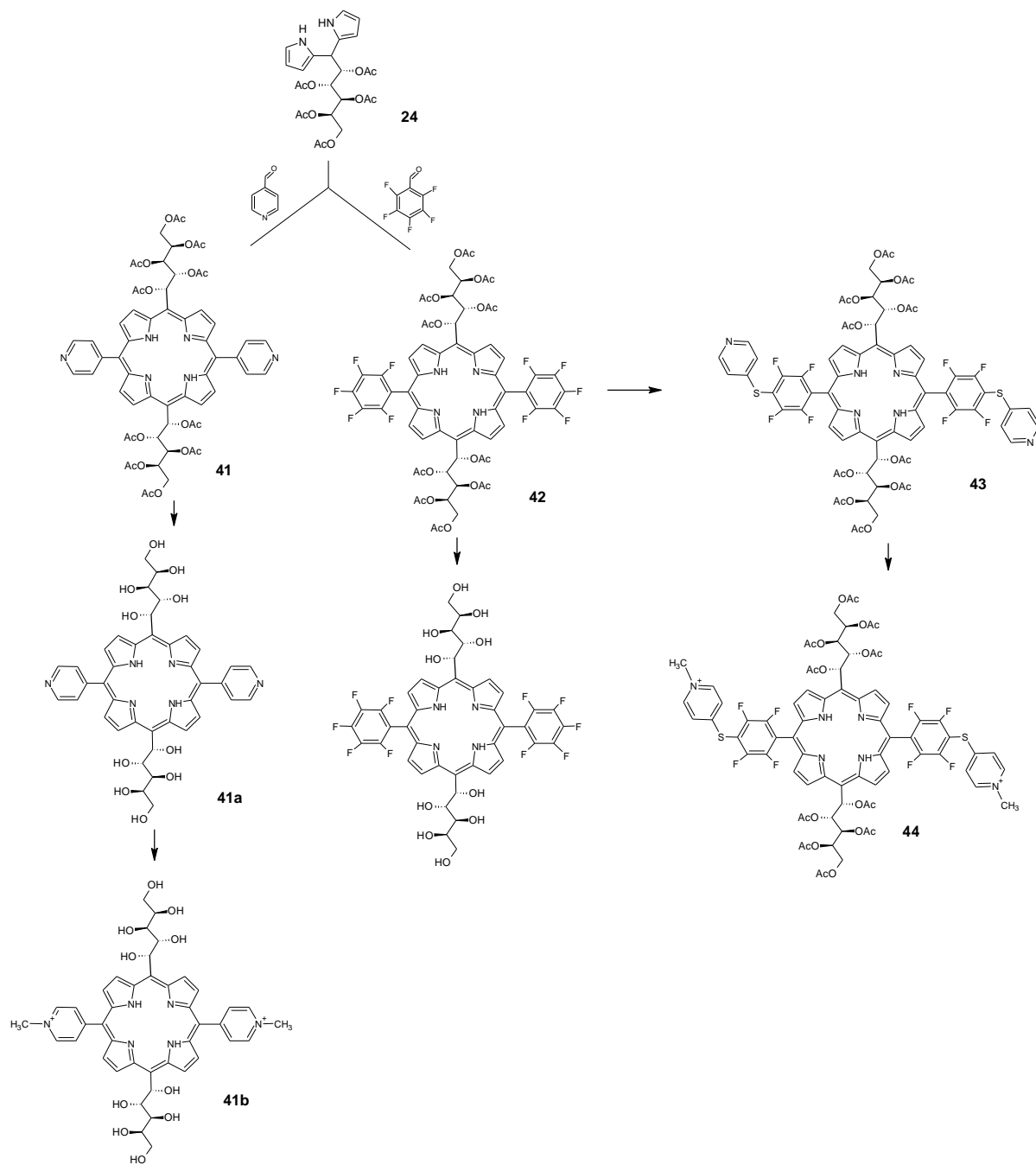
## (b) Síntese de novas C-glicoporfirinas neutras.



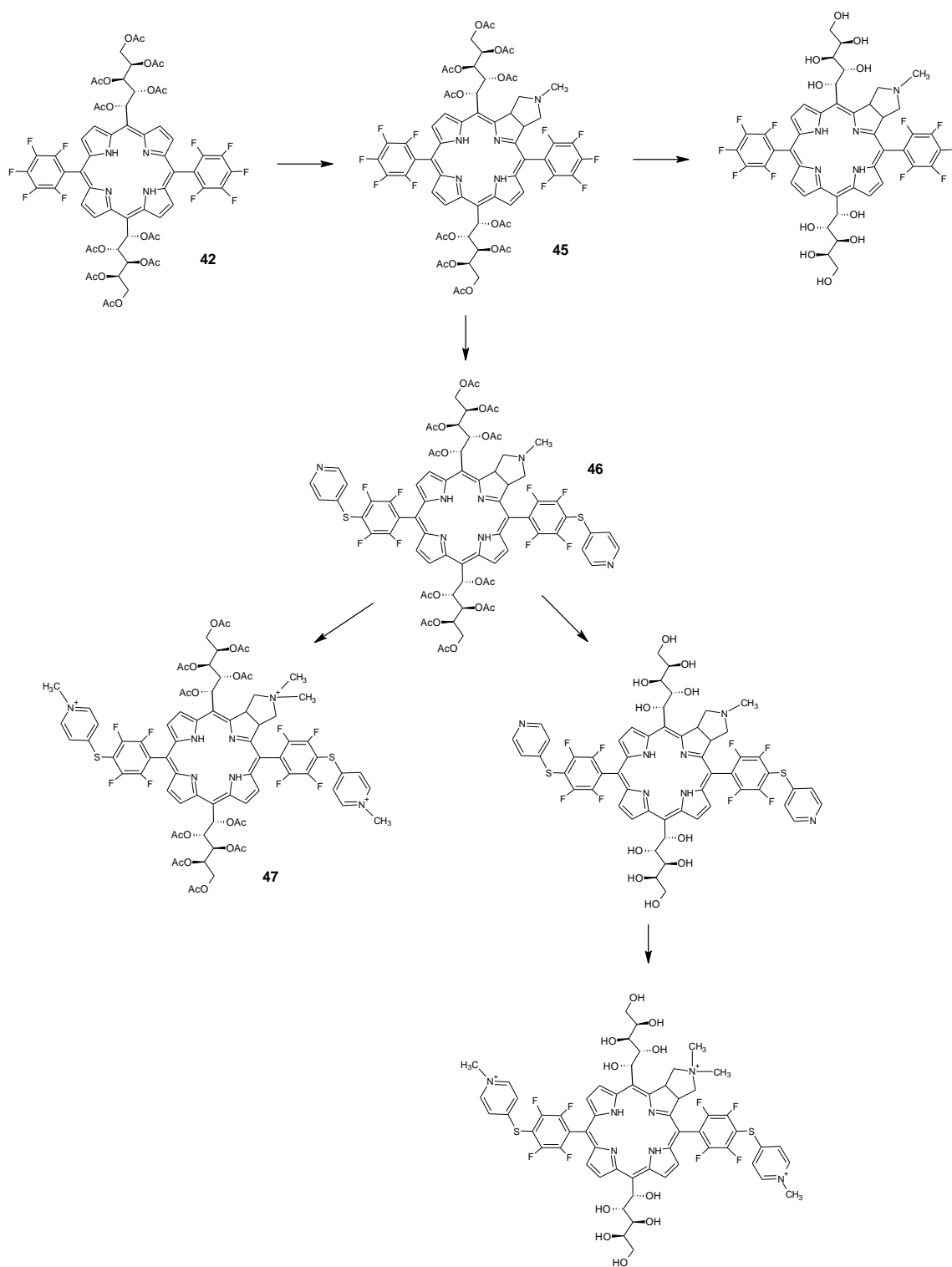
(b) Síntese de C-glicoporfirinas neutras com diferentes grupos protetores (C-glicoporfirinas perbenzoiladas, perbenziladas e permetiladas).



(c) Síntese de C-glicoporfirinas neutras e catiônicas derivadas do pentafluorbenzaldeído e 4-piridina carboxialdeído.



## (d) Síntese de clorinas neutras e catiônicas



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 QUÍMICA DAS PORFIRINAS

As porfirinas e derivados denominam-se compostos tetrapirrólicos, uma vez que são constituídos por quatro anéis pirrólicos ligados entre si por pontes metínicas ( $=CH-$ ), formando assim um macrociclo, o qual apresenta um espaço apropriado para acomodar íons metálicos. Os representantes mais comuns desta classe de compostos são o grupo heme, que contém ferro e a clorofila, que contém magnésio.

Existem vários sistemas de nomenclatura para o macrociclo porfirínico (FIGURA 1), sendo os mais importantes: o decorrente da escola de Fischer (FIGURA 1A), que tem como base uma nomenclatura trivial, e o proposto pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), que tem em vista maior uniformização dos nomes destes macrociclos (FIGURA 1B) (SMITH, 1975; BONNET, 1978).

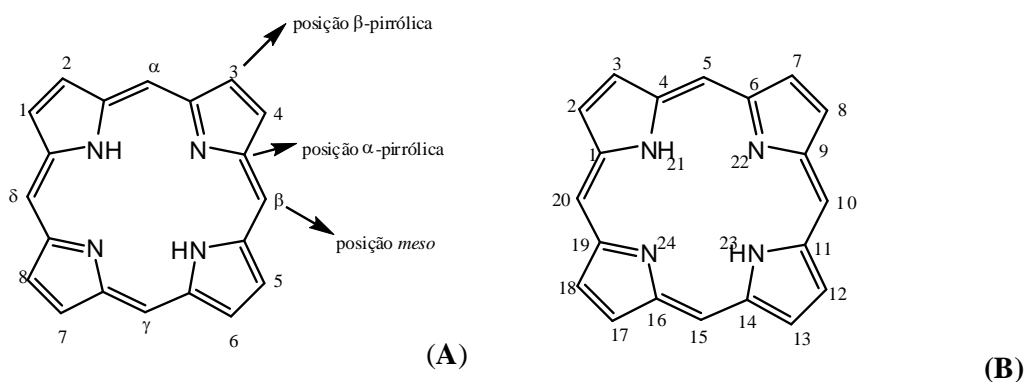


Figura 1 - Numeração do macrociclo porfirínico segundo Fischer (A) e a IUPAC (B) (SMITH, 1975; BONNET, 1978)

Na Figura 1A, encontra-se descrita a numeração de um macrociclo porfirínico de acordo com o sistema de Fischer, onde os carbonos externos dos anéis pirrólicos são numerados de 1 a 8, posições também designadas por  $\beta$ -pirrólicas. As pontes metínicas (posições inter-pirrólicas) são designadas pelas letras gregas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  e são também designadas como posições *meso*. A comissão da IUPAC recomendou um sistema no qual todos os átomos, tanto os de carbono quanto os de nitrogênio fossem numerados, de 1 a 24, como indicado na Figura 1B. Os hidrogênios ligados

aos átomos de nitrogênio encontram-se no N-21 e N-23, por convenção (SMITH, 1975; BONNET, 1978).

As porfirinas são sistemas aromáticos de 22 elétrons  $\pi$ , embora só 18 deles contribuam para a sua aromaticidade (regra de Hückel  $4n+2$  elétrons, onde  $n=4$ ). Por cristalografia demonstrou-se que trata-se de uma estrutura planar. Estes sistemas de 22 elétrons  $\pi$  podem sofrer redução, originando derivados porfirínicos do tipo clorina, isobacterioclorina e bacterioclorina (FIGURA 2) mantendo, contudo, a sua aromaticidade (MARCH, 1992).

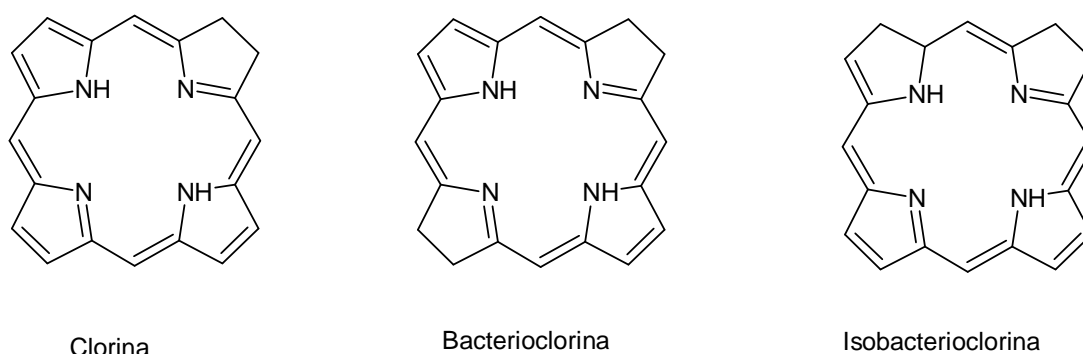


Figura 2 - Derivados porfirínicos reduzidos (MARCH, 1992)

O espectro na região do visível típico de porfirinas (FIGURA 3) é caracterizado pela presença de uma banda, a cerca de 400 nm, denominada banda Soret, com absortividade molar muito elevado, e ainda outras bandas satélites, de menor intensidade e em maiores comprimentos de onda, denominadas bandas Q. A banda Soret reflete a presença dos dezoito elétrons  $\pi$  deslocalizados, responsáveis pelo caráter aromático destes compostos. O número e intensidade relativa das bandas Q pode ser relacionado, no caso de macrociclos não complexados, com os substituintes presentes nas posições *meso* e  $\beta$ -pirrólicas, ou, no caso de complexos, com a estabilidade do íon metálico central (SMITH, 1975; BONNET, 1978). Ainda, os derivados mais reduzidos das porfirinas (clorinas e bacterioclorinas) apresentam uma banda de absorção mais intensa próxima a 700 nm, podendo ser úteis como fotossensibilizadores nas várias modalidades de fototerapia, uma vez que nesta faixa espectral a luz apresenta maior penetração nos tecidos dos organismos vivos (COSTA et. al., 2012).

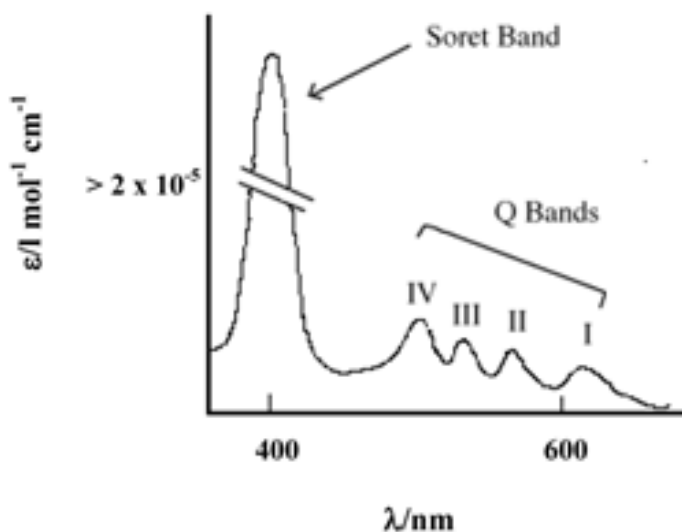


Figura 3: Espectro de UV-vis característico de porfirinas

## 2.2 APLICAÇÕES DAS PORFIRINAS

As porfirinas e seus derivados têm aplicação em vastas áreas, tais como: catálise química (LEE; HUPP, 2006; SIMONNEAUX *et al.*, 2006), catálise enzimática (MURAKAMI *et al.*, 1996), sensores químicos (PURRELLO; GURRIERI; LAUCERI, 1999; LEE; HUPP, 2006), cristais líquidos (WANG; BRUCE, 1996; ARUNKUMAR; BHYPAPPA; VARGUESE, 2006), e inseticidas (REBEIZ *et al.*, 1990). São também utilizadas como transportadores artificiais de oxigênio (KOMATSU *et al.*, 2005), no diagnóstico de neoplasias (PAPAZOGLU, 1995; MIYOSHI *et al.*, 2004), e na esterilização do sangue (TRANNOY *et al.*, 2004). A imobilização de porfirinas em materiais poliméricos também vem sendo proposta para o tratamento da água e efluentes (BONNET *et al.*, 2006; CARVALHO *et al.*, 2007; COSTA *et al.*, 2008).

As porfirinas também são conhecidas por servirem como fotossensibilizadores em diversos procedimentos fotodinâmicos aplicados à terapêutica. Um processo fotodinâmico se relaciona à utilização da combinação de um fotossensibilizador, luz e oxigênio molecular com o objetivo de ocasionar destruição seletiva de um alvo biológico. Tais alvos biológicos podem estar relacionados a células tumorais (YAMAMOTO *et al.*, 1999) e, nesse caso, o processo fotodinâmico é denominado Terapia Fotodinâmica ("Photodynamic Therapy", PDT). A PDT também é útil no tratamento de outras doenças onde há o interesse na eliminação de um tecido doente, como é o caso da psoríase (BOEHNCKE; ELSHORST-SCHMIDT;



KAUFMANN, 2000), degeneração macular da retina, acne (ITOH *et al.*, 2000; ASHKENAZI *et al.*, 2003), artrite (TRAUNER; HASAN, 1996), e aterosclerose (ROCKSON *et al.*, 2000). Quando os alvos do processo fotodinâmico são micro-organismos ou as estruturas específicas desses, o processo é denominado Quimioterapia Antimicrobiana Fotodinâmica (“Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy”, PACT) (WAINWRIGHT, 1998) ou mais comumente, Inativação Fotodinâmica (“Photodynamic Inactivation”, PDI) (HAMBLIN; HASAN, 2004). Assim, a PDI apresenta-se útil na fotoinativação de bactérias (HAMBLIN *et al.*, 2002), fungos (CORNICK *et al.*, 2009) e vírus (ASANAKA *et al.*, 1989; VZOROV *et al.*, 2002; TOMÉ *et al.*, 2005).

### 2.2.1 Terapia Fotodinâmica (PDT)

A PDT envolve a combinação de um fotossensibilizador, luz e oxigênio molecular com objetivo de gerar espécies reativas de oxigênio, tais como o oxigênio singlete e os radicais livres, os quais são citotóxicos, servindo para eliminação de células e tecidos indesejáveis.

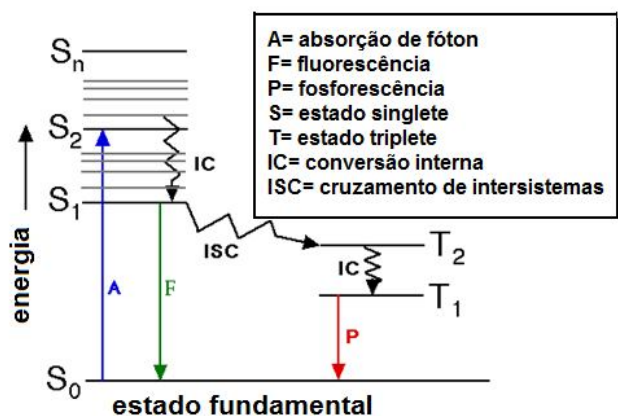
As características de um fotossensibilizador ideal na PDT são:

- Elevada pureza;
- Caráter anfifílico: ser solúvel em água, mas conter uma porção hidrofóbica, facilitando a penetração nas células (BONNET, 1995);
- Baixa toxicidade na ausência de luz;
- Fotossensibilidade não prolongada;
- Farmacocinética favorável (rápida eliminação do corpo);
- Síntese relativamente simples;
- Produto comercial de alta estabilidade;
- Facilidade de manuseio sintético que permita efetuar modificações para otimizar as propriedades desejáveis;
- Alta afinidade e penetração no tecido doente em detrimento do tecido saudável (seletividade);
- Forte absorção na região acima de 650 nm, onde a luz apresenta maior penetração no tecido;
- Alto rendimento no estado excitado tripleto;

- Gerar  $^1\text{O}_2$  com um rendimento apreciável (STERNBERG; DOLPHIN, 1998).

O processo de fotossensibilização é mostrado no diagrama de Jablonski modificado (FIGURA 4 a), que apresenta as diversas transições que um elétron sofre após passar ao estado excitado.

(a)



(b)

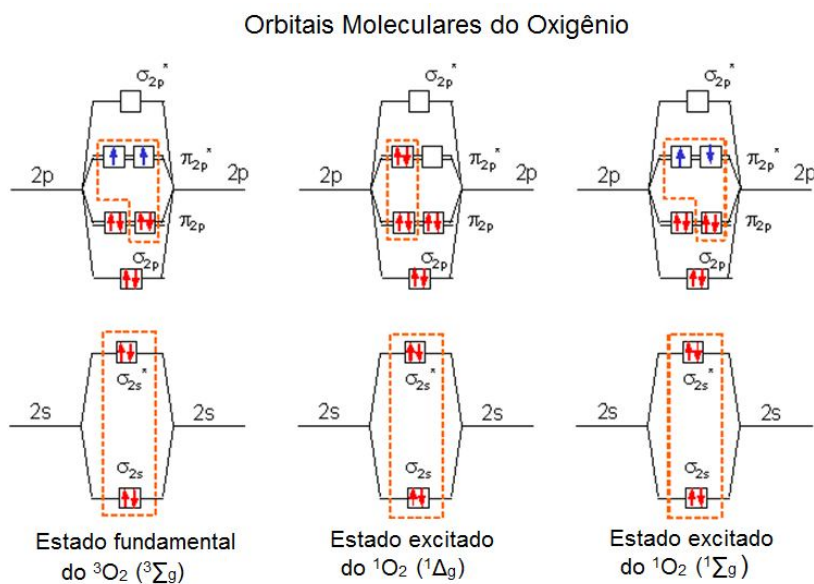


Figura 4: (a) Diagrama de Jablonski modificado e (b) Orbitais moleculares do estado tripleto e singlete do oxigênio molecular.

Este processo pode ser explicado pela capacidade que o macrociclo porfirínico possui em absorver energia no espectro da luz visível, passando do seu estado fundamental de singlete ( $S_0$ ) para um estado excitado ( $S_1$ ) cujo tempo de vida é da ordem dos nanossegundos. Em princípio, o elétron poderia passar a outros estados excitados singlete, com tempo de vida na ordem de picossegundos, no entanto, processos de conversão interna conduzem a porfirina ao estado excitado de singlete menos energético ( $S_1$ ). Existem vias diferentes de retorno do elétron ao estado singlete fundamental:

- 1) Decaimento não radiativo, onde a energia é libertada sob a forma de calor.
- 2) Decaimento radiativo por emissão de luz (fluorescência) de comprimento de onda superior à luz absorvida.
- 3) Conversão do fotossensibilizador num estado excitado triplete ( $T_2$ ) através de um fenômeno designado como cruzamento de intersistemas (ISC). Depois, o decaimento para o estado ( $S_0$ ) pode ocorrer por via radiativa, com emissão de fosforescência implicando em uma inversão de spin, ou por via não radiativa, podendo causar modificações químicas em substratos biológicos.

Quando o fotossensibilizador está no estado triplete podem ocorrer danos celulares através de dois mecanismos:

- a) Mecanismo tipo I – O fotossensibilizador que se encontra no estado excitado triplete reage diretamente com moléculas que estão próximas por processos de transferência de elétrons formando radicais livres. No caso em que o oxigênio é o substrato, forma-se  $O_2^{\cdot-}$ .
- b) Mecanismo do tipo II – O fotossensibilizador no estado excitado triplete transfere a sua energia para o oxigênio molecular no estado fundamental de triplete ( $^3O_2$ ), convertendo-o em oxigênio singlete ( $^1O_2$ ). Supõe-se que o oxigênio singlete seja a espécie mais envolvida na destruição do alvo biológico na PDT (FIGURA 4a) (DEROSA; CRUTCHLEY, 2002).

Oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) corresponde aos estados eletronicamente excitados imediatamente superiores ao oxigênio molecular no estado fundamental triplete ( $^3O_2$ ). Segundo a teoria dos orbitais moleculares, a configuração eletrônica do oxigênio no estado fundamental possui dois elétrons desemparelhados nos orbitais moleculares antiligantes  $\pi_{2p}^*$  (Figura 4b). Esses elétrons tendem a possuir o mesmo spin de forma a produzir multiplicidade máxima e assim um estado de mais baixa

energia ( $^3\Sigma_g$ ). Essa é a razão pela qual o estado fundamental do oxigênio molecular é um triplete ( $n+1$ ; onde  $n = 2$ ). A Figura 4b apresenta as formas de ocupação nesses orbitais moleculares antiligantes para o oxigênio no estado fundamental e para os estados excitados imediatamente superiores. Desses estados, o que possui energia intermediária ( $^1\Delta_g$ ; 92,4 kJ/mol) é o responsável pela reatividade química do oxigênio singlete. A simetria dessa molécula, diferente da observada no estado fundamental, lhe garante um considerável tempo de vida quando comparada com a forma de mais alta energia ( $^1\Sigma_g$ ; 159,6 kJ/mol), que possui a mesma simetria do estado fundamental. O orbital molecular vazio no estado  $^1\Delta_g$  confere ao oxigênio singlete um caráter eletrofílico, o que favorece sua participação mais efetiva em reações químicas, principalmente no caso em que os substratos possuem sítios ricos em elétrons (MACHADO, 2000).

O oxigênio singlete é uma espécie altamente reativa e oxidante, reagindo indiscriminadamente com uma série de biomoléculas que constituem as membranas de organelas celulares como, por exemplo: lipídios insaturados, colesterol e aminoácidos. Dado que as membranas celulares desempenham importantes funções biológicas, tais como delinear e organizar os sistemas biológicos, danos em suas estruturas podem levar à destruição do sistema vascular de um tumor ou à inativação de micro-organismos (BONNET, 1995).

#### 2.2.1.1 PDT no câncer

O Photofrin® foi o primeiro fotossensibilizador aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento do câncer na PDT. A Tabela 1 mostra exemplos de medicamentos contendo fotossensibilizadores aprovados clinicamente para o tratamento de câncer.

Tabela 1: Características de alguns fotossensibilizadores utilizados na PDT (CONNOR; GALLAGHER; BYRNE, 2009)

Fotossensibilizador	Photofrin (porfirina)	Foscan (clorina)	NPe6 (clorina)	Levulan (pró-fármaco-porfirina)	Metviz (porfirina)
Absorção (nm)	630	652	664	635	635
Local de dano celular	Complexo de Golgi, membrana plasmática	Retículo endoplasmático, mitocôndria	Lisossomo, endossomo	Mitocôndria, citoplasma, membrana citoplasmática	Mitocôndria, citoplasma, membrana citoplasmática
Intervalo de tempo da administração do medicamento-luz	24-48h	96h	2-4h	4-6h	3h
Aplicação clínica	Aprovado: Câncer de esôfago, Câncer endobronquial microinvasiva, displasia e câncer gástrico, bexiga, papilar e cérvico	Aprovado: Câncer de cabeça e pescoço	Aprovado (Japão): Câncer de pulmão no estágio inicial	Aprovado: Queratoses actínicas	Aprovado: Queratoses actínicas, carcinoma de células basais

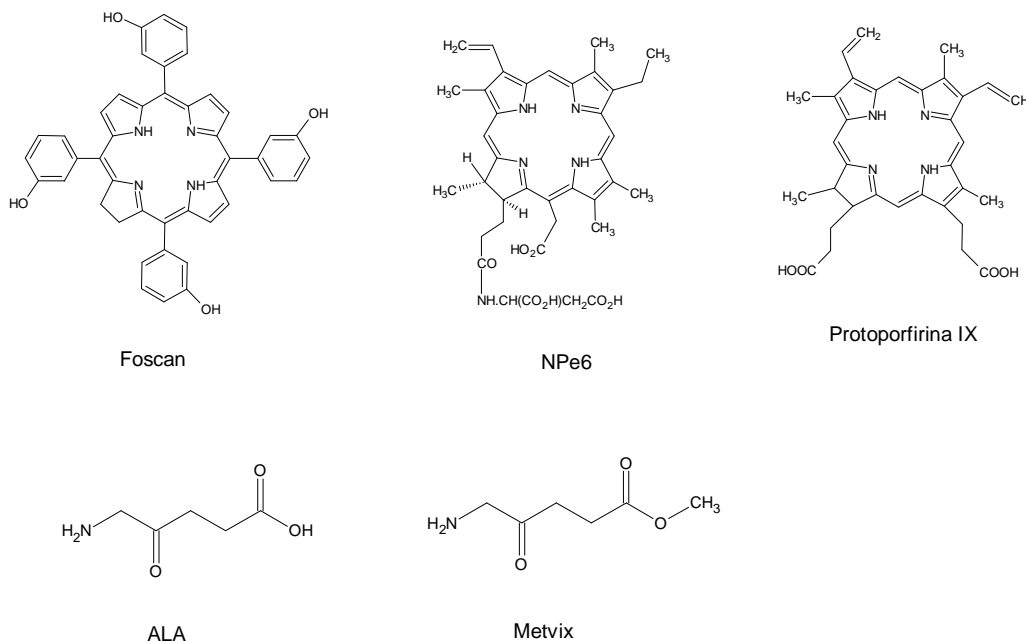


Figura 5: Estrutura química de alguns fotossensibilizadores utilizados na PDT.

Os mecanismos de ação do Photofrin® na PDT incluem danos às células do endotélio vascular com hipóxia e trombose, necrose isquêmica das células tumorais, bem como a intensa inflamação local associada à resposta imunitária. Consequentemente, o tratamento de pacientes com câncer de bexiga com Photofrin®, por vezes provoca o aparecimento de numerosos efeitos colaterais, incluindo um aumento na frequência urinária, noctúria, dor suprapúbica, espasmo da bexiga e ocasionalmente contração permanente da bexiga. Embora o Photofrin® continue a ser um dos fotossensibilizadores mais utilizados na PDT, sendo ainda visto como o 'padrão ouro' para esta forma de terapia em oncologia, este fotossensibilizador está longe de ser considerado ideal. O Photofrin® é uma mistura complexa e indefinida de compostos diméricos e oligoméricos, apresentando baixa efetividade em tecidos mais profundos, devido à sua fraca absorção no espectro da região do vermelho. A avaliação por electroforese capilar da Photofrin revelou que o mesmo contém mais de 60 componentes. Além disso, a droga não é seletiva em  $2 \text{ mg kg}^{-1}$  (concentração normal de administração). Assim, ocorre uma fotossensibilidade prolongada obrigando os pacientes a ficarem protegidos da luz solar durante pelo menos 4 semanas pós-tratamento. Por estas razões, alternativas ao Photofrin® estão sendo desenvolvidas.

O Levulan (ácido 5-aminolevulínico, precursor biossintético protoporfirina IX FIGURA 5) é um fotossensibilizador de segunda geração. A FDA aprovou o Levulan para o tratamento tópico de queratoses actínicas de face e couro cabeludo em 1999. O tratamento com Levulan emprega o ácido 5-aminolevulínico (ALA), o qual é metabolizado em protoporfirina IX (PpIX) nas mitocôndrias. Similar a outras porfirinas, a PpIX tem absorção máxima em 410 nm e outras bandas menores em 510, 540, 580 e 635 nm, permitindo uma irradiação de várias fontes de luz. As vantagens do Levulan incluem o uso do ALA, o que facilita o preparo da formulação devido à sua hidrofiliabilidade. O ALA também apresenta protocolo de tratamento simples, fotossensibilidade mínima após o tratamento e excelentes resultados cosméticos. Além disso, o tratamento pode ser repetido, sem efeitos cumulativos. No entanto, há um pouco de dor associada ao tratamento. A desvantagem do Levulan é que o tratamento é limitado à profundidade do tumor (1mm).

O Metvix (ácido metil aminolevulínico) é um precursor metil éster do Levulan, o qual apresenta uma maior lipofiliabilidade permitindo uma maior penetração no estrato córneo da pele. Metvix possui uma vantagem significativa sobre o Levulan, a qual permite uma penetração mais profunda em lesões malignas e mostra maior seletividade para o tumor. Levulan e Metvix são usados rotineiramente na oncologia dermatológica que representa uma especialidade médica onde a PDT é hoje amplamente utilizada.

Foscan (*meso*-tetra-hidroxiclorigina) é uma clorigina (FIGURA 5) que é fotoativada em 652 nm. É um fotossensibilizador de segunda geração, possui uma meia-vida no plasma em seres humanos de 45-65 h. Foscan foi aprovado na Europa para o tratamento paliativo de câncer de cabeça e pescoço em 2001. Doses de droga e intensidade de luz necessária para obter uma resposta semelhante ao Photofrin são até 100 vezes mais baixa, devido as propriedades fotofísicas superiores e maior produção de oxigênio singlete pelo Foscan. Embora o Foscan pareça ser um dos mais ativos fotossensibilizadores conhecidos, uma grande desvantagem apresentada por este produto é a fotossensibilidade prolongada da pele, que pode durar várias semanas seguintes ao tratamento. Apesar dos inconvenientes, o Foscan pode oferecer benefícios clínicos em pacientes que não responderam aos tratamentos padrão.

O NPe6 (mono L-aspartil clorina 6) é um fotossensibilizador de segunda geração quimicamente puro aprovado no Japão para tratamento de câncer de pulmão (FIGURA 5). O NPe6 é um fotossensibilizador promissor para o tratamento de vários tipos de câncer. É um composto eficaz e seguro com um mínimo de fotossensibilidade da pele resultante, a sua hidrofiliabilidade permite uma fácil formulação (CONNOR; GALLAGHER; BYRNE, 2009).

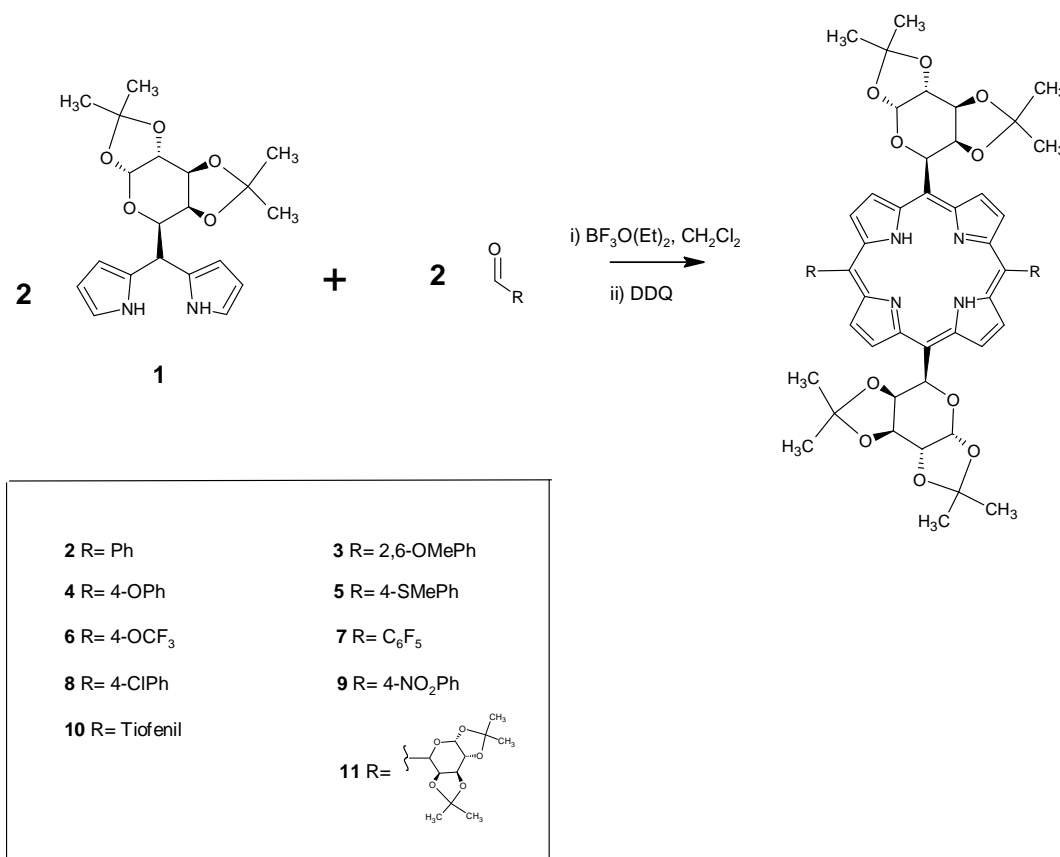
Apesar de alguns dos fotossensibilizadores apresentados terem demonstrado boa eficácia na terapêutica, esses produtos são apropriados para o tratamento de um número limitado de tipos de tumores. Ainda, durante os procedimentos relacionados à PDT é virtualmente impossível que, pelo menos, pequenas quantidades de fotossensibilizadores se acumulem no tecido saudável adjacente. A ocorrência deste fato está altamente relacionada aos efeitos indesejáveis relacionadas a este tipo de terapia. Assim, algumas tentativas têm sido feitas de modo a direcionar o fotossensibilizador à célula alvo através da conjugação do fotossensibilizador a outras moléculas. Por exemplo, a conjugação de fotossensibilizadores com anticorpos pode conduzir o fotossensibilizador ao antígeno específico na superfície da célula tumoral (PANDEY; DOUGHERTY, 2005). No mesmo sentido, uma vez que os oligossacarídeos desempenham um papel essencial no reconhecimento celular, as porfirinas conjugadas a carboidratos podem não apenas melhorar a solubilidade do fotossensibilizador em água, mas também sua interação com a membrana plasmática (PANDEY; DOUGHERTY, 2005).

Os carboidratos apresentam-se como um potencial sistema de entrega de fotossensibilizador, uma vez que são moléculas biocompatíveis com uma absorção rápida e reconhecimento específicos por proteínas (lectinas), as quais desempenham um papel importante em várias vias de sinalização bioquímicas envolvidas na metástase, crescimento celular do câncer e a inflamação. O mecanismo de interação dos conjugados de fotossensibilizadores com carboidratos em células de câncer ainda é desconhecido. No entanto, espera-se que a ligação específica (não-covalente) de carboidratos com lectinas promova o acúmulo do glico-conjugado dentro das células por via endocítica. Além disso, a expressão de certas lectinas (por exemplo, galectinas) é mais elevada em células de câncer do que em células não tumorais (PEREIRA *et al.*, 2014).



O reconhecimento de moléculas de galactose pelas galectinas em células de câncer (por exemplo, galectina-1 e galectina-3) levou ao desenvolvimento de conjugados fotossensibilizador-galactose. Há evidência na literatura de que a conjugação de carboidratos (glucose, galactose, lactose) com porfirinas pode melhorar o acúmulo de fotossensibilizadores em células cancerosas e, conseqüentemente, sua fotoatividade específica (PEREIRA *et al.*; 2014).

Vedachalam e colaboradores sintetizaram C-glicoporfirinas e avaliaram suas atividades biológicas frente às células tumorais HeLa e HCT-116 (ESQUEMA 1). Os rendimentos das sínteses das glicoporfirinas variaram de 5-16%. Os derivados **4**, **5**, **10** e **11**, mostrados no ESQUEMA 1, apresentaram uma captação celular significativa e fotocitotoxicidade em células HeLa e HCT-116, em concentrações de 1  $\mu$ M. Os resultados confrontados mostraram que a glicoporfirina **11** exibiu uma maior captação e fotocitotoxicidade (VEDACHALAM *et al.*, 2011).



Esquema 1: Síntese de C-glicoporfirinas.

### 2.2.1.2 PDI (inativação fotodinâmica) de micro-organismos

A descoberta da penicilina em 1928 por Alexander Fleming foi uma das maiores revoluções do século XX na área médica, uma vez que foi possível controlar infecções bacterianas até então fatais. Desde então, os antibióticos têm sido indispensáveis no tratamento de infecções microbianas. Este fato contribuiu para o aumento da expectativa de vida humana. Entretanto, tais avanços científicos têm sido acompanhados por uma redução da eficácia dos antibióticos disponíveis no mercado, o que é resultado do uso inapropriado ou excessivo destas substâncias, tanto em nível médico como veterinário. Com o crescente número de estirpes de micro-organismos resistentes aos antibióticos, é extremamente importante encontrar tratamentos alternativos para as infecções microbianas. A possibilidade da utilização da PDI como uma abordagem não antibiótica para inativar micro-organismos patogênicos apresenta-se bastante promissora (HAMBLIN; HASAN, 2004; COSTA *et. al.*, 2012).

Embora vários fotossensibilizadores já tenham sido aprovados clinicamente para o tratamento do câncer, no que se refere à fotoinativação de micro-organismos, apenas alguns fotossensibilizadores têm sido utilizados em tratamentos de infecções microbianas. Os derivados do ALA encontram-se já aprovados para o tratamento da acne. O azul de metileno tem sido estudado para o tratamento de infecções orais. Outros fotossensibilizadores bastante estudados na PDI são baseados nos macrociclos tetrapirrólicos, com ênfase principalmente nas porfirinas e clorinas. A Figura 6 mostra as estruturas químicas dessas famílias de fotossensibilizadores mais utilizados em estudos de PDI (ALVES *et. al.*, 2014).

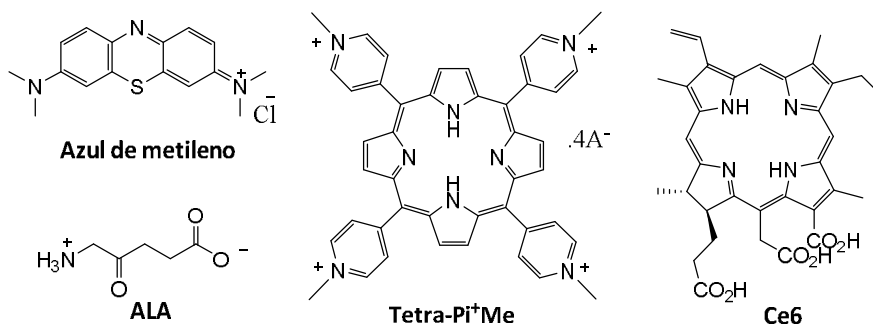


Figura 6: Estrutura química de alguns fotossensibilizadores utilizados na PDI (ALVES *et. al.*, 2014).

#### 2.2.1.2.1 PDI em bactérias

É documentado que, em geral, bactérias Gram-positivas são eficientemente fotoinativadas por uma variedade de porfirinas, porém as bactérias Gram-negativas são usualmente resistentes à ação de fotossensibilizadores neutros (BONNET *et al.*, 1993; MERCHAT *et al.*, 1996). Entretanto, porfirinas catiônicas têm se mostrado eficientes na fotoinativação tanto de bactérias Gram-negativas quanto nas Gram-positivas (MERCHAT *et al.*, 1996). Essas diferenças de suscetibilidade entre as espécies bacterianas são explicadas pela diferente composição estrutural de suas paredes celulares (FIGURA 7) (FU; FANG; YAO, 2013; ALVES *et al.*, 2014). As bactérias Gram (+) apresentam uma parede espessa predominantemente constituída de peptideoglicanos, intimamente associada com ácidos teicóicos e ácidos lipoteicóicos que permite a passagem dos fotossensibilizadores. Já as bactérias Gram (-) possuem uma parede fina de peptideoglicanos e uma membrana externa, a qual impede a passagem dos fotossensibilizadores e de outros agentes antimicrobianos (HAMBLIN; HASAN, 2004; FU; FANG; YAO, 2013; ALVES *et al.*, 2014).

Os LPS são moléculas anfifílicas, ou seja, apresentam uma região hidrofílica (polissacarídeo) e uma região hidrofóbica (lipídeo A). Os LPS localizam-se apenas na parte externa, com a região hidrofílica projetada para a parte externa da célula, contribuindo para a elevada eletronegatividade da superfície bacteriana. Cátions divalentes estabelecem interações não covalentes entre os LPS adjacentes, contribuindo para a estabilização da membrana externa. Esta estabilidade da membrana externa impede a penetração de detergentes, antibióticos e corantes hidrofóbicos. A remoção dos íons divalentes por agentes quelantes origina a liberação de LPS da membrana externa, tornando-a permeável a compostos hidrofóbicos (FERREIRA, 1998). Neste sentido, alguns trabalhos mostraram que porfirinas neutras conseguiam inativar bactérias Gram (-) aumentando a permeabilidade da membrana externa artificialmente, e.g., por um pré-tratamento químico ou agentes biológicos, como  $\text{CaCl}_2$ , Tris-EDTA, polimixina nonapeptídeo (MALIK; LADAN; NITZAN, 1992; MERCHAT *et al.*, 1996).

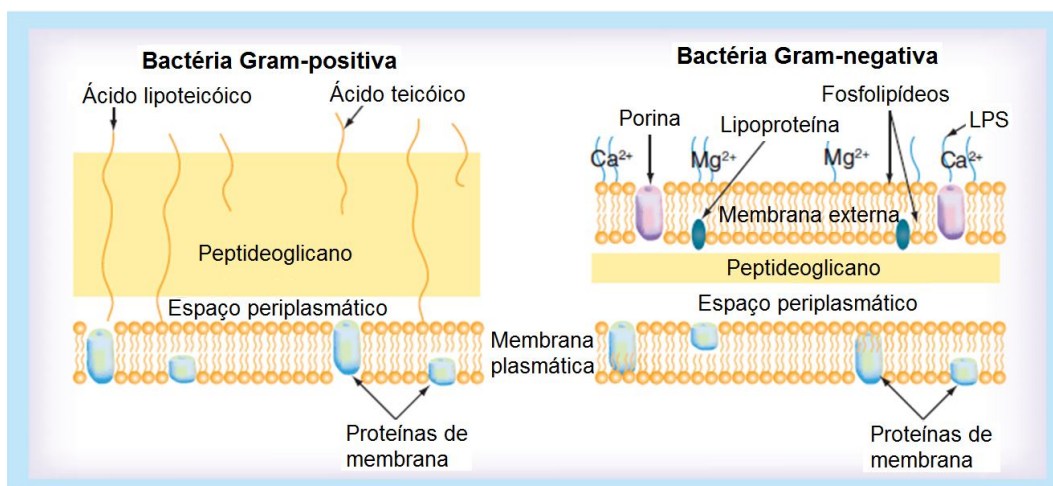


Figura 7: Estrutura da parede celular das bactérias Gram (+) e Gram (-).

Os estudos com porfirinas catiônicas mostraram que há uma interação eletrostática entre a carga positiva do fotossensibilizador e as cargas negativas do fosfato presente nos LPS da membrana externa promovendo a desestabilização da organização estrutural da parede celular. Assim, quanto maior a desorganização da barreira de permeabilidade maior a absorção do fotossensibilizador (MALIK; LADAN; NITZAN, 1992). É por esta razão que porfirinas catiônicas apresentam um espectro de ação maior em comparação que porfirinas neutras e aniônicas.

A 5,10,15,20-tetraquis(1-metilpiridínio-4-il)porfirina (Tetra- $PI^+Me$ ) tem sido testada em vários estudos de fotoinativação de microrganismos e tem apresentado bons resultados na PDI, sendo a mesma um dos fotossensibilizadores de referência na área (ALVES *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2014).

Costa e colaboradores compararam a inativação fotodinâmica promovida pela porfirina Tetra- $PI^+Me$ , porfirina S-piridil tetra-catiônica e clorina pentacatiônica contra duas estirpes de bactérias resistentes aos antibióticos (*Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*). Os resultados mostram que ambas as estirpes, foram eficientemente inativadas pelos três fotossensibilizadores, sendo a clorina pentacatiônica a mais eficaz. Para a bactéria Gram (+) *S. aureus*, uma redução de log 7,0 foi observada após 5–10 min de irradiação, a uma concentração de 0,5  $\mu M$ . Já para a bactéria Gram (-) *P. aeruginosa*, a fotoinativação similar ocorreu a uma concentração mais elevada do fotossensibilizador (10  $\mu M$ ), depois do período de tempo de irradiação (30 min) (COSTA *et al.*, 2012).

A clorina e6 (Ce6) é a mais utilizada nos estudos experimentais na inativação de micro-organismos entre os derivados de clorina. Bons resultados foram obtidos com Ce6 usando laser diodo ( $\lambda=664$  nm) como fonte de luz, na inativação de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), *P. aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (PARK *et. al.*, 2010).

Além de inativar bactérias, a PDI também tem sido eficiente na inativação de vírus, fungos e parasitas utilizando fotossensibilizadores em concentrações micromolares (WAINWRIGHT, 1998; WAINWRIGHT, 2002)

#### 2.2.1.2.2 PDI em fungos

A parede celular fúngica é constituída por uma camada espessa de  $\beta$ -glucana e quitina, que proporciona uma barreira de permeabilidade intermediária entre bactérias Gram (+) e Gram (-) (DAI; HUANG; HAMBLIN, 2009). Assim como nas bactérias, várias abordagens têm sido aplicadas para superar esta barreira de permeabilidade nos fungos, como a combinação do fotossensibilizador com nonapéptido polimixina (NITZAN *et. al.*, 1992) ou EDTA (VALDUGA *et.al.*, 1993).

Espécies como *Saccharomyces cerevisiae* (CARRÉ *et. al.*, 1999) tem sido utilizadas para avaliar o dano da destruição celular induzido por PDI em células eucarióticas. Há relatos na literatura da inativação de *Aspergillus fumigatus* por meio da PDI (FRIEDBERG *et. al.*, 2001). Em estudos recentes foi observado que *C. albicans* e *Trichophyton rubrum* podem ser fotoinativadas com sucesso utilizando a porfirina catiônica sintética 5-fenil-10,15,20-tris-(1-metilpiridínio-4-il) na forma de sal de cloreto (SMIJS *et. al.*, 2004; LAMBRECHTS *et. al.*, 2005).

ALA (ácido 5-aminolevulínico) também provou ser eficaz *in vivo* contra *Trichophyton rubrum* confirmando a PDI como uma abordagem alternativa não invasiva para o tratamento da onicomicose (PIRACCINI; RECH; TOSTI, 2008).

A PDI também tem sido estudada em dermatófitos como: *Trychophyton mentagrophytes*, *Trychophyton tonsurans*, *Trychophyton rubrum*, *Microsporum cookei*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum*, *Nannizia cajeitani* (CALZAVARA-PINTON; VENTURINI; SALA, 2005).

### 2.2.1.2.3 PDI em vírus

A maior parte dos trabalhos com vírus dentro da PDI têm sido realizados na esterilização de sangue e hemoderivados (WAINWRIGHT, 2002; HAMBLIN; HASAN, 2004; WAINWRIGHT; MOHR; WALKER, 2007). A PDI mostra-se ideal no processamento de proteína de plasma ou de plasma fresco congelado. Os fotossensibilizantes podem ser adicionados diretamente às unidades de plasma em seus sacos plásticos. Corantes fenotiazínicos, tais como o azul de metileno (MB), azul de toluidina, vermelho neutro são fotossensibilizadores adequados uma vez que eles absorvem a luz em comprimentos de onda acima de 500 nm, em que as proteínas plasmáticas não absorvem. Além disso, eles formam complexos fortes com as proteínas de superfície e os ácidos nucleicos do vírus (SANTUS, *et. al.*; 1998). Lambrecht e colaboradores mostraram que a adição de 1  $\mu$ M de MB e irradiação de 30 minutos com lâmpada de halogênio de 150 W numa distância de 20 cm foi suficiente para erradicar vírus com envelope como VSH, HSV e HIV1 de 0,5 mL de amostra de plasma (SANTUS, *et. al.*; 1998).

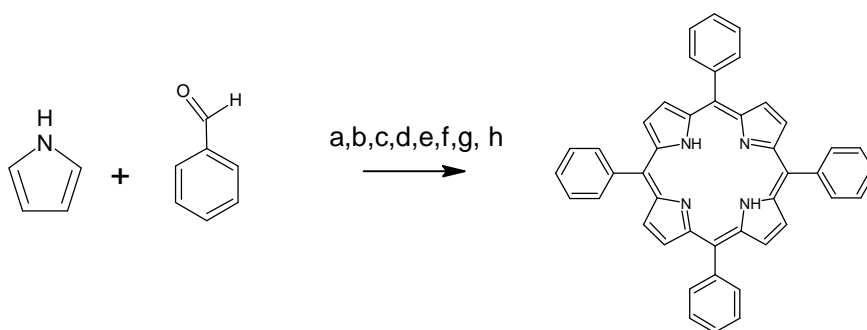
Huang e colaboradores mostraram que o vírus da dengue pode ser fotoinativado em 5 minutos utilizando MB  $\geq 1,0$   $\mu$ g/mL com 2,5 m de distância da fonte de luz. Entretanto, numa distância de 3 m, o vírus foi inativado em concentrações maiores de MB (2,0  $\mu$ g/mL) usando tempos mais longos (25 min) (HUANG *et. al.*, 2004).

Em geral, os trabalhos de PDI relacionados à inativação de vírus indicam que os vírus com envelope lipídico são mais susceptíveis à PDI em comparação com as estirpes sem envelope (HAMBLIN; HASAN, 2004). Estudos relataram a fotoinativação dos vírus envelopados do *Herpes simplex* tipo 1 e 2 ao se utilizar porfirinas catiônicas conjugadas com carboidratos (TOMÉ *et. al.*, 2005; TOMÉ *et. al.*, 2007) e ALA (KVACHEVA *et. al.*, 2005).

## 2.3 SÍNTESE DE PORFIRINAS

A primeira referência à síntese de porfirinas *meso*-substituídas deve-se a Rothemund, em 1935, que preparou mais de trinta porfirinas, entre as quais a 5,10,15,20-tetrafenilporfirina (TPP) (ROTHERMUND, 1936). Esta síntese foi realizada por meio do aquecimento do pirrol e o correspondente benzaldeído em piridina a

220°C durante 48 horas em condições anaeróbicas (ESQUEMA 2). Apesar deste método ser bastante simples, os produtos eram obtidos com rendimentos muito baixos (inferior a 5%) e normalmente as porfirinas encontravam-se contaminadas com a correspondente clorina (ROTHEMUND, 1939). Com a adição de acetato de zinco na reação ocorria um aumento no rendimento de 10 a 11% (BALL; DOROUGH; MALVIN, 1946).



- a: Condições de Rothmund: piridina, 220°C, 48h, 5%
- b: Condições de Adler e Longo:  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , 141°C, 30 minutos, 20%
- c. Condições de Lindsey: 1.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , t.a.,  $\text{BF}_3$ ,  $\text{N}_2$ ; 2. DDQ, 40%
- d. Condições de Rocha Gonsalves:  $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ , 120°C, 1 h, 20%
- e. Condições de Johnstone: 1.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , t.a.,  $\text{BF}_3$ , 2.  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}_2$ , 40%
- f. Condições de Liu: 1.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , t.a.  $\text{I}_2$ , 2. IBX, 39°C, 4h, > 50%
- g. Condições de Nascimento:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , t.a.,  $\text{BF}_3$ , 16h; 2.  $\text{MnO}_2$ , Micro-ondas, 50%
- h. Condições de Ló: 1.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , t.a.,  $\text{BF}_3$ , 2.  $\text{SeO}_2$ , >50%

Esquema 2 - Processos de síntese de porfirinas *meso*-substituídas

Os baixos rendimentos obtidos nas condições de Rothmund levaram, mais tarde, Adler e Longo a alterar as condições de condensação. Neste caso, esta reação ocorria em meio ácido e em condições aeróbicas. Assim, a TPP foi obtida refluxando o pirrol e o benzaldeído em ácido propiônico durante 30 minutos a 141°C, obtendo-se o produto final na forma cristalina, diretamente do meio de reação, com rendimento acima de 20% (ESQUEMA 2b). No entanto, o macrociclo porfirínico

encontrava-se também contaminado com a respectiva clorina, embora em pequenas quantidades (ADLER *et al*, 1967).

A metodologia de Adler-Longo apresentava certos problemas, entre eles: (a) falhas com a utilização de aldeídos sensíveis devido às duras condições de reação, (b) produção de uma grande quantidade de alcatrão que dificultava a purificação, especialmente com aquelas porfirinas que não cristalizavam ou precipitavam no final da reação e (c) apresentava reprodutibilidade lote-a-lote baixa (LINDSEY *et al*, 1987).

Com isso, Lindsey e colaboradores entre 1979 e 1986 desenvolveram uma metodologia de síntese complementar ao procedimento de Adler-Longo que se baseava no fato que a formação do intermediário de reação das porfirinas *meso*-substituídas, o correspondente porfirinogênio, ser termodinamicamente favorável quando o pirrol e o benzaldeído são condensados nas condições apropriadas (ESQUEMA 2c). Este tipo de síntese é realizada em duas etapas: inicialmente o pirrol e o aldeído são submetidos à uma reação de condensação numa solução de diclorometano seco, na presença de um catalisador ácido ( $\text{BF}_3$ , TFA ou  $\text{BCl}_3$ ), a temperatura ambiente sob atmosfera de nitrogênio e protegido da luz. Numa segunda fase o porfirinogênio formado é oxidado por adição de um agente oxidante (DDQ - 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona ou *p*-cloranil - tetracloro-1,4-benzoquinona) originando a correspondente porfirina, livre dos derivados reduzidos (LINDSEY *et al*, 1987). Este método permite o uso de aldeídos sensíveis, já que a reação é conduzida em temperatura ambiente. Esta característica é uma vantagem em relação aos métodos citados anteriormente. Em contrapartida, esta metodologia necessita de várias cromatografias para a purificação do produto.

Posteriormente, Gonsalves e colaboradores demonstraram que é possível preparar, num só passo, porfirinas *meso*-tetra-aril-substituídas com bons rendimentos e sem estarem contaminadas com a respectiva clorina, por condensação do pirrol e do benzaldeído numa mistura de ácido acético ou ácido propiônico com 30% de nitrobenzeno a 120 °C, durante uma hora e em condições aeróbicas (ESQUEMA 2d) (GONSALVES; VAREJÃO; PEREIRA, 1991). Assim como os métodos de Rothmund e Adler-Longo, este procedimento também envolve a utilização de altas temperaturas. Entretanto, o método de Gonsalves permite a utilização de aldeídos mais polares, os quais não são passíveis de serem empregados nas condições de Lindsey.



Variações da metodologia de Lindsey vêm sendo frequentemente encontradas na literatura. Além das quinonas (DDQ e *p*-cloranil utilizadas no método de Lindsey, outros agentes oxidantes (ESQUEMA 2 e-h) vêm sendo estudados recentemente para a síntese de porfirinas como por exemplo:  $\text{H}_2\text{O}_2$  em ácido acético (JOHNSTONE *et al.*, 1996), ácido *o*-iodoxibenzóico (IBX) (LIU *et al.*, 2009),  $\text{MnO}_2$  (NASCIMENTO; GONSALVES; PINEIRO, 2010) e o  $\text{SeO}_2$  (LÓ *et al.*, 2011). É importante destacar que o  $\text{SeO}_2$  apresenta vantagens em relação aos métodos citados acima, tais como: baixo custo, fácil remoção do meio de reação por ser um agente oxidante sólido e rendimentos de até 56%.

## 2.4 SÍNTESE DE DIPIRROMETANOS

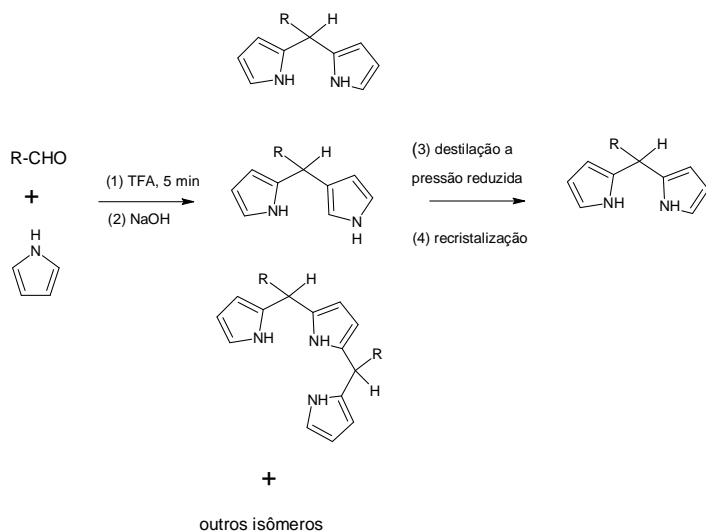
A maneira mais direta de se obter porfirinas sintéticas corresponde à condensação direta de um aldeído e pirrol (ESQUEMA 2). Entretanto, o uso de intermediários dipirrometanos pode viabilizar a síntese de porfirinas contendo substituintes não idênticos nas posições *meso*, o que viabiliza melhores rendimentos quando compara-se com a obtenção de porfirinas através da reação de misturas de diferentes aldeídos frente ao pirrol (em condições estequiométricas).

As três maneiras de se obter dipirrometanos são descritas a seguir (ESQUEMA 3) (LINDSEY, 2010):

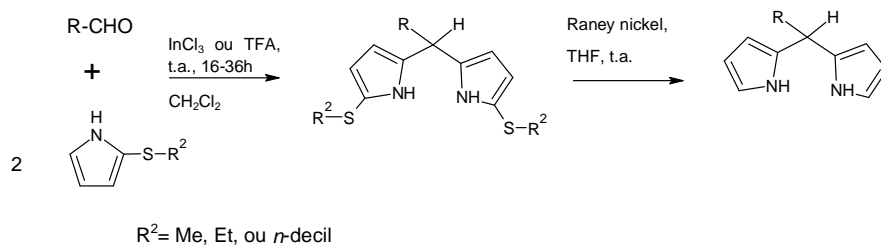
- A síntese de dipirrometano em um frasco ("*one-flask synthesis*") é realizada por meio da reação entre pirrol (reagente e solvente), aldeído e ácido (TFA ou  $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$  ou  $\text{InCl}_3$ ) em temperatura ambiente. A alta proporção entre pirrol e aldeído (25:1 a 100:1) suprime a oligomerização adicional, além da etapa de formação do dipirrometano. O composto pode ser purificado por cromatografia (pequena escala) ou destilação a pressão reduzida, seguido de recristalização (quantidades em gramas).
- A síntese dirigida ("*directed synthesis*") utiliza quantidades estequiométricas de  $\alpha$ -tioalquilpirrol e aldeído. O grupo  $\alpha$ -tioalquil direciona a reação para a posição  $\alpha'$ , bloqueando a oligomerização. Este grupo pode ser removido por reagente de Raney nickel.

- A síntese passo a passo (“*stepwise synthesis*”). Nesta metodologia inicia-se com um  $\alpha$ -acilpirrol, o qual é reduzido utilizando  $\text{LiAlH}_4$ . Posteriormente a forma reduzida é tratada com excesso de pirrol para a formação do dipirrometano. Porém, entre os métodos citados acima, o mais utilizado é o “one-flask synthesis”.

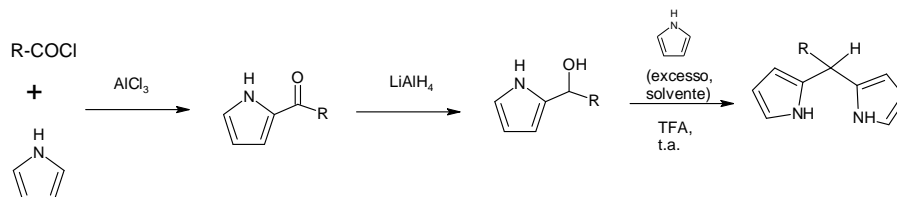
Síntese em um frasco (“*One-flask synthesis*”):



Síntese dirigida (“*Directed synthesis*”):



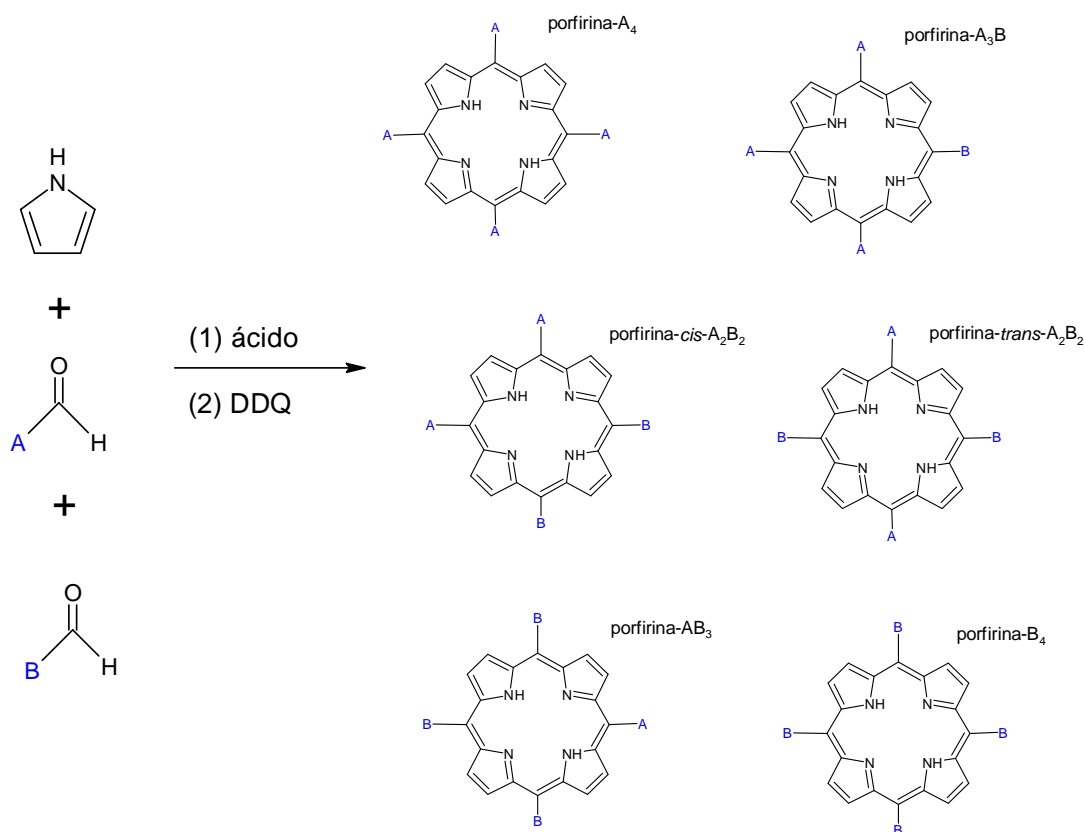
Síntese passo a passo (“*Stepwise synthesis*”):



Esquema 3: As três maneiras de se obter dipirrometanos.

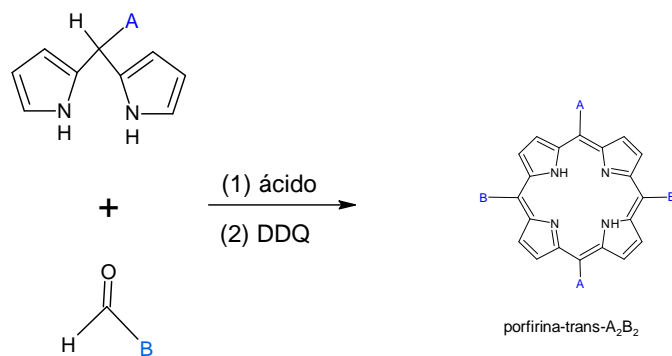
## 2.5 ROTAS DE OBTENÇÃO DE PORFIRINAS *TRANS*-SUBSTITUÍDAS

Há quatro formas de se obter porfirinas *trans*-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> (LINDSEY, 2010). A primeira delas corresponde à reação entre dois aldeídos e pirrol, o que leva a formação de até seis porfirinas, entre eles a porfirina *trans*-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>. Porém, neste caso a purificação da porfirina desejada requer várias cromatografias (ESQUEMA 4).



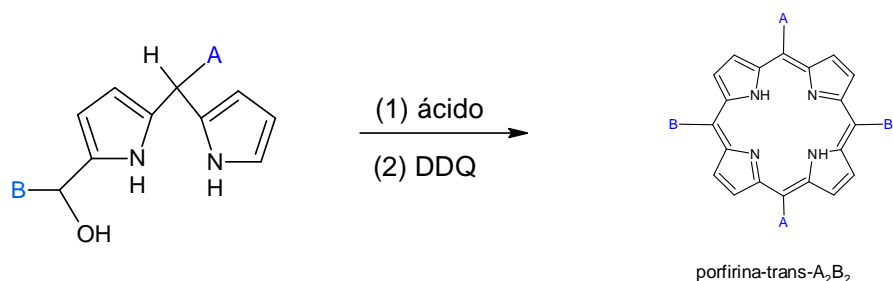
Esquema 4: Obtenção de porfirinas A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> via reação do pirrol com a mistura de dois aldeídos.

O método mais comum de síntese de porfirina *trans*-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> se dá por meio da condensação entre um dipirrometano e um aldeído. Entretanto, nesta metodologia pode ocorrer o “*scrambling*” (embaralhamento), ou seja, a formação de porfirina A<sub>4</sub>, A<sub>3</sub>B, *cis*-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>, AB<sub>3</sub> e B<sub>4</sub> (ESQUEMA 5). Apesar disso, os produtos de embaralhamento costumam ser minoritários e, assim, facilmente removidos pelos processos de purificação.



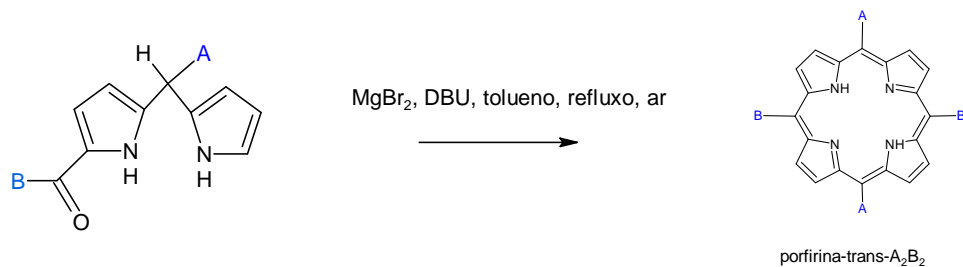
Esquema 5: Síntese de porfirinas A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> via reação de aldeídos com dipirrometanos.

Outra maneira de se obter porfirinas do tipo A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> consiste na autocondensação de monocarbinol-dipirrometano AB substituído utilizando um ácido catalisador e o DDQ como agente oxidante. A vantagem deste método é a não ocorrência de “*scrambling*” (ESQUEMA 6).



Esquema 6: Síntese de porfirinas A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> via autocondensação de um monocarbinol-dipirrometano.

Também pode-se obter porfirinas *trans*-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> através da auto-condensação de 1-acildipirrometano utilizando MgBr<sub>2</sub>, DBU (1,8-Diazabicyclo[5,4,0]undec-7eno) em tolueno (ESQUEMA 7).



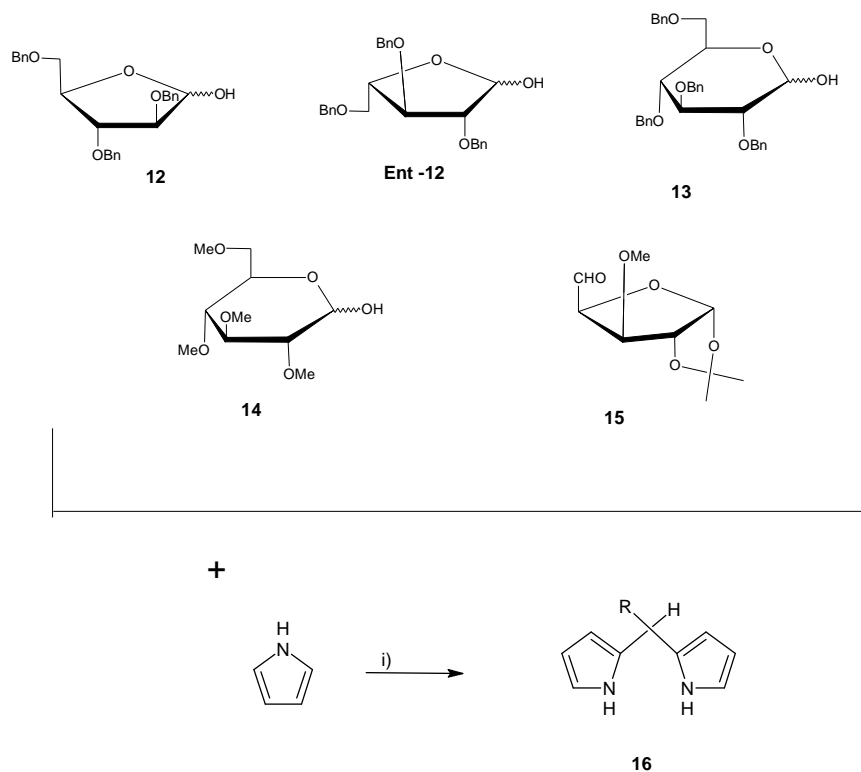
Esquema 7: Síntese de porfirinas A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> via autocondensação de um 1-acildipirrometano.

## 2.6 SÍNTESE DE GLICOPORFIRINAS

Vários grupos estão envolvidos na modificação estrutural das porfirinas com objetivo de gerar compostos com propriedades fotofísicas e hidrofóbicas/hidrofílicas requeridos para um fotossensibilizador ideal. Porfirinas contendo uma porção carboidrato têm sido descritas como fotossensibilizadores eficientes para serem usados na PDT (TOMÉ, 2005).

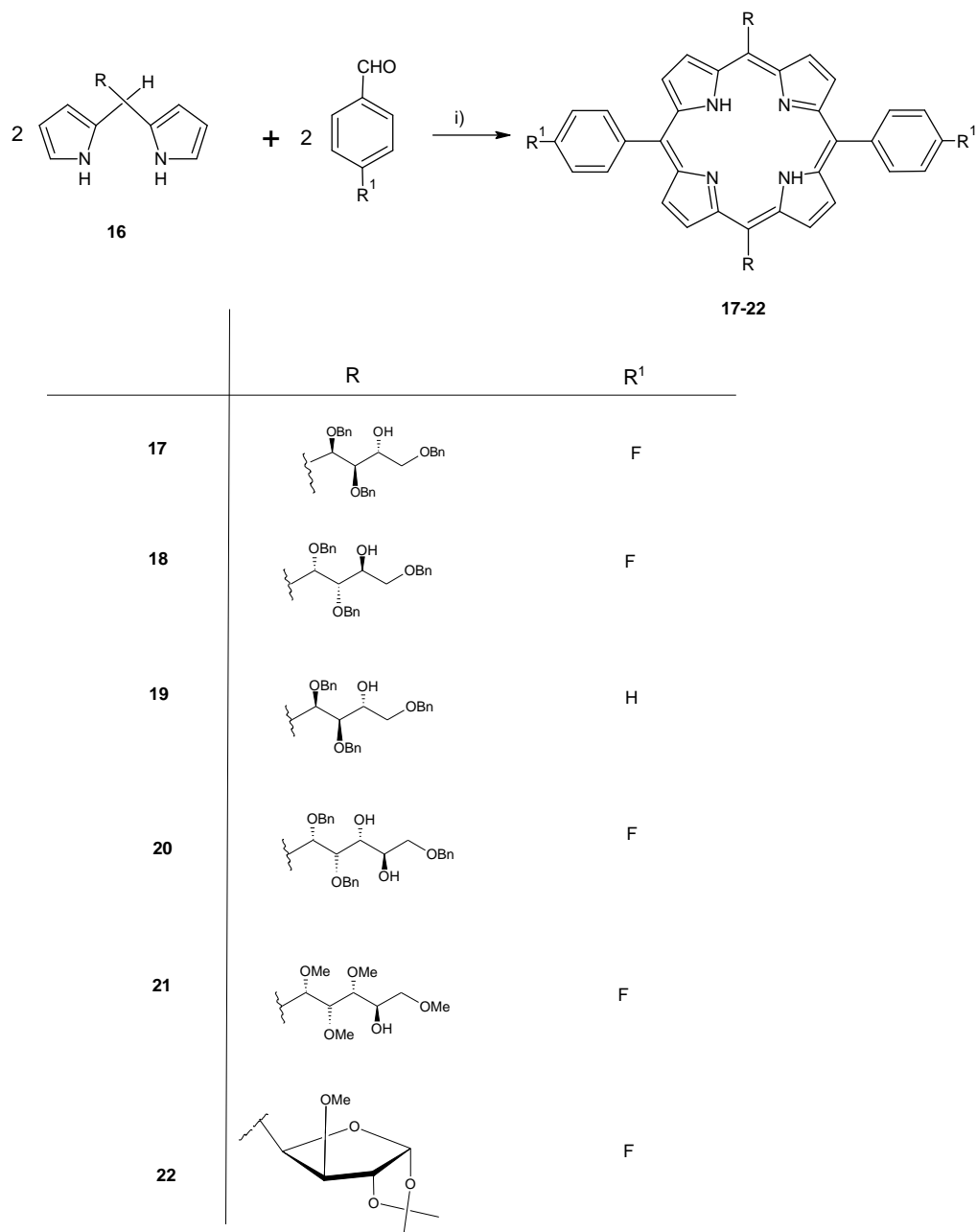
Existem ao menos quatro estratégias para modificar a lipofilicidade e anfifilicidade de porfirinas glicosiladas: (i) alterar o número de porções de carboidrato, (ii) tipo de carboidrato (e.g. monossacarídeo, dissacarídeo e polissacarídeo), (iii) alterar a posição dos substituintes e (iv) síntese com ou sem grupo protetor (ZHENG; PANDEY, 2008).

Exemplos de porfirinas contendo porção açúcar diretamente ligado ao macrociclo foram descritas por Casiraghi. A condensação das aldoses furanosila e piranosila **12–15** com pirrol foi efetuada com diclorometano, em temperatura ambiente na presença de cloreto de estanho durante uma hora de reação. O resfriamento do meio de reação, adição bicarbonato de sódio e subsequente purificação em coluna cromatográfica gerou dipirrometanos com estrutura compatível com o composto **16** (ESQUEMA 8) (CASIRAGHI *et al.*, 1994).



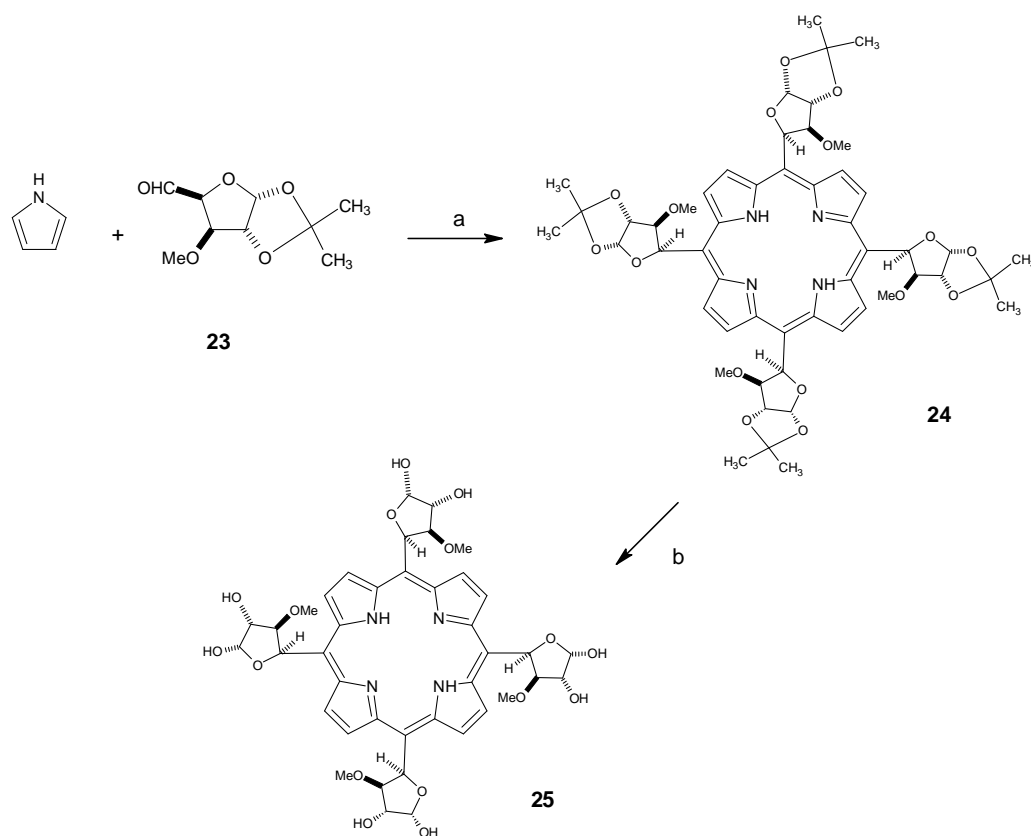
Esquema 8 – Síntese dos derivados glicodipirrometanos. Condições experimentais: i) CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, SnCl<sub>4</sub>, t.a, 1 h, NaHCO<sub>3</sub> (CASIRAGHI et al., 1994)

A síntese de glicoporfirinas com a porção açúcar ligada ao carbono *meso* do macrociclo por meio de ligações carbono-carbono foi obtida por condensação de unidades de dipirrometanos **16**, com 4-fluorobenzaldeído ou benzaldeído, em diclorometano no escuro e sob uma atmosfera de argônio, na presença de ácido trifluoroacético ou BF<sub>3</sub> eterato. Os porfirinogênios intermediários foram oxidados com DDQ para a obtenção das porfirinas **17–22** (ESQUEMA 9) (CASIRAGHI *et al.*, 1994).



Esquema 9 – Síntese dos derivados glicoporfirínicos **17-22**. Condições experimentais: i) (a) TFA ou  $\text{BF}_3\text{OEt}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , t.a., argônio; (b) DDQ (CASIRAGHI *et al.*, 1994).

Outro exemplo de síntese de C-glicoporfirina é mostrado no Esquema 10:



Esquema 10 - Exemplo de síntese de tetra-C-glicoporfirinas. (a)  $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , t.a., 3h, em seguida DDQ,  $\text{Et}_3\text{N}$ , t.a. 18h (6%); (b) solução aquosa TFA 75%,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ultrassom, 3h (90%) (CORNIA, et. al., 2000).

Para obter a glicoporfirina **24** foi utilizado a dialdose **23** (disponível comercialmente) e pirrol na proporção 1:1 nas condições descritas no método de Lindsey. A condensação direta entre **23** e pirrol em condições ácidas, seguido por oxidação pelo uso do DDQ forneceu o composto **24** com rendimento de 6%. A desproteção do composto **24** resultou no composto **25**. Nesta reação obteve-se um rendimento de 90% (CORNIA *et al.*, 2000).



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MÉTODOS GERAIS

##### 3.1.1 Purificação dos produtos

##### 3.1.1.1 Cromatografia em camada delgada (sílica)

As cromatografias de camada delgada analítica (CCD) foram realizadas em Sílica Gel em folhas de alumínio 60 F254 (Merck) utilizando misturas de solventes medidas em base de v/v. Após cromatografia, os açúcares foram visualizados através de borrifamento com solução de orcinol 0,5% em etanol/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. (20/1) e aquecimento até o aparecimento de cor. Os compostos que apresentam cor não foi necessário uso de um revelador.

##### 3.1.1.2 Cromatografia em coluna de sílica sob pressão (*“dry flash chromatography”*)

Para purificação preparativa dos compostos foi utilizada cromatografia em coluna de sílica sob pressão (*“dry flash chromatography”*) em Sílica Gel de grau CCD 60 (Merck). A quantidade de sílica e o tamanho da coluna foram selecionados de acordo com a relação descrita por Still, Kahn e Mitra (1978).

##### 3.1.1.3 Cromatografia em coluna de alumina

As purificações dos sólidos resultantes das sínteses de porfirinas que utilizaram DDQ como agente oxidante foram realizadas por cromatografia em coluna de alumina neutra SIGMA-ALDRICH.

### 3.1.2 Caracterização estrutural dos produtos

#### 3.1.2.1 Ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos com o espectrômetro BRUKER Avance DRX 400 operando na frequência base de 400,13 MHz e 100,63 MHz para os núcleos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , respectivamente.

Os assinalamentos e as magnitudes das constantes de acoplamento foram obtidos a partir dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  através de análises de primeira ordem. A aparência dos sinais foi indicada pelas abreviaturas b, s, d, t, q, e m para “broad”, singlete, duplete, triplete, quarteto e multiplete, respectivamente.

As amostras foram solubilizadas em solventes deuterados (DMSO  $d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$  entre outros) e colocadas em tubos de 5 mm de diâmetro para análise a temperaturas entre 25°C e 75°C. Os solventes deuterados utilizados são referenciados em cada espectro. Como padrão interno foi usado o TMS ( $\delta = 0$  ppm).

Os assinalamentos dos compostos foram efetuados com a ajuda de técnicas bidimensionais como  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (“Correlation Spectroscopy”) e  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC (“Heteronuclear Single-Quantum Correlation”). O estudo conformacional das porfirinas obtidas no presente trabalho foram realizados como auxílio da técnica monodimensional de  $^1\text{H}$  NOE (“Nuclear Overhauser Effect”) e bidimensional de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY (“Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy”).

#### 3.1.2.2 Ionização por *eletrospray* acoplada à espectrometria de massa (ESIMS)

Os experimentos de ESIMS foram realizados no espectrômetro MICROMASS QUATTRO LC-MS/MS de triplo quadrupolo. A aquisição e processamento de dados foram feitos utilizando o programa MASLYNX 3.5. Os dados de massa são apresentados em termos de razão  $m/z$ .

### 3.1.2.3 Ionização por dessorção de matriz assistida por laser acoplada a analisador de massas de tempo de voo (MALDI-TOF)

Os espectros de massas foram obtidos com o espectrômetro MALDI-TOF/MS modelo Autoflex II (Bruker Daltonics). A matriz HCCA (ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico) foi previamente adicionada nas amostras para realização destas análises. Os dados de massa são apresentados em termos de razão  $m/z$ .

### 3.1.2.4 Espectrometria de massas de alta resolução (HRMS)

Os espectros de HRMS foram realizados no espectrômetro Bruker Apex-Qe ou no espectrômetro Bruker MicroTOF-Q II XL usando diclorometano ou clorofórmio ou metanol como solvente. Os dados de massa são apresentados em termos de razão  $m/z$ .

### 3.1.2.5 Espectroscopia eletrônica de Ultravioleta-visível

Para realização das análises as amostras foram dissolvidas (2  $\mu\text{g/mL}$ ) em diclorometano. Os espectros de UV-visível foram obtidos no espectrofotômetro Shimadzu UV-1800.

### 3.1.2.6 Determinação da rotação óptica

A rotação óptica foi obtida a partir de soluções com concentração 3 mg/mL (0,3%) ou 5mg/mL (0,5%) ou 10mg/mL (1,0 %) dos compostos em  $\text{CHCl}_3$  ou  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ou DMSO. Utilizou-se para as medições um polarímetro modelo Jasco P-200 o qual possuía como fonte de emissão uma lâmpada de sódio operando no comprimento de onda de 589 nm à temperatura de 25°C. A cubeta possuía 100 mm de comprimento definindo o caminho óptico. Os cálculos foram processados e operados no programa Spectra Manager seguindo-se a seguinte fórmula:

$$[\alpha]_D^{20^\circ\text{C}} = \frac{100 \cdot \alpha}{l \cdot c}$$

Onde:

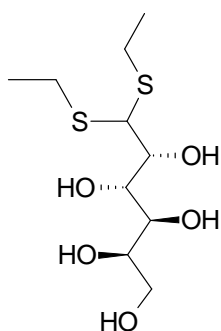
$\alpha$ =ângulo medido no polarímetro

$l$  = comprimento da cubeta em dm

$c$ = concentração da amostra em g/100ml

## 3.2 SÍNTESE DE DERIVADOS AÇÚCARES

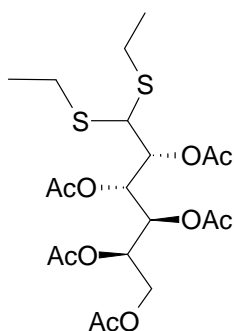
### 3.2.1 Preparação da galactose dietilditioacetal (**2**)



**2**

Em uma mistura sob agitação a 0°C contendo galactose (**1**) (5 g/ 0,0278 mol) e HCl concentrado (7,5 mL/ 0,0904 mol) foi adicionado vagarosamente etanotiol (EtSH) (5 mL/ 0,0675 mol). Após 40 minutos de reação, a mistura se solidificou em uma massa branca. Em seguida, foram adicionados gelo e água gelada. A massa branca obtida foi filtrada e seca no liofilizador. O material foi cristalizado em 40 mL de etanol 95% a quente, recristalizado em 200 mL de água quente e filtrado por meio de funil. Após a purificação, o composto **2** foi obtido com 29% de rendimento (2,30 g). RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (ppm): 4,14 (dd,  $J_{2,3}$ = 1,3 e  $J_{3,4}$ = 9,1 Hz , 1H, H-3), 4,08 (d,  $J_{1,2}$ = 9,2 Hz, 1H, H-1), 3,92 (ddd,  $J_{4,5}$ = 1,6 Hz, 1H, H-5), 3,88 (dd, 1H, H-2), 3,70-3,61 (m, 3H, H-4, H-6a, H-6b), 2,80-2,64 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,29-1,24 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ). Os dados espectroscópicos observados apresentam-se de acordo com a literatura (ROBERTS *et.al.*, 1987).

### 3.2.2 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-galactose dietilditioacetal (**3**)

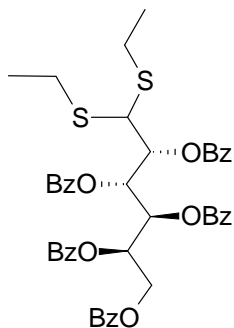
**3**

**Método A:** Galactose dietilditioacetal (**2**) (2,24 g/ 0,0078 mol) foi dissolvida em piridina (7,8 mL) sob agitação a 0°C. Próximo da solubilização total da galactose ditioacetal, foi adicionado anidrido acético (11,2 mL) gradualmente. A mistura foi mantida a 0°C por uma hora e em seguida deixada por 18 horas a temperatura ambiente. Após esse tempo, foi adicionado 500 mL de gelo. O produto (**3**) foi obtido como cristais, os quais foram lavados com água e secos em liofilizador (3,69 g, 95% de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 5,77 (dd,  $J_{2,3}$  = 1,8 e  $J_{3,4}$  = 9,5 Hz, 1H, H-3), 5,24 (dd,  $J_{4,5}$  = 2,2 Hz, 1H, H-4), 5,27-5,14 (m, 2H, H-2, H-5), 4,28 (dd,  $J_{5,6a}$  = 5,0 Hz e  $J_{6a,6b}$  = 11,7 Hz, 1H, H-6a), 3,91-3,80 (m, 2H, H-1, H-6b), 2,75-2,53 (m, 4H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 2,12, 2,10, 2,00 (s, 15H,  $\text{COCH}_3$ ), 1,26-1,19 (m, 6H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ). Os dados espectroscópicos observados apresentam-se de acordo com a literatura (KHAN; KHAN, 2010).

**Método B (a partir da galactose **1**):** Em uma mistura sob agitação a 0°C contendo galactose (**1**) (0,1 g/ 0,55 mmol) e HCl concentrado (0,15 mL/ 1,8 mmol) foi adicionado vagorosamente etanotiol (0,1 mL/ 1,35 mmol). Após 30 minutos de reação, a mistura se solidificou em uma massa branca. Em seguida, foi adicionado piridina (3 mL) e anidrido acético (2,5 mL) a 0°C. A reação foi mantida sob agitação a 0°C por uma hora e em seguida deixada por mais 18 h a temperatura ambiente. Após este tempo, foi adicionado  $\text{H}_2\text{O}$  (115 mL). O produto foi extraído com  $\text{CHCl}_3$ . A fase clorofórmica foi lavada com sulfato de cobre 5%, seca ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e concentrada. O resíduo foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de

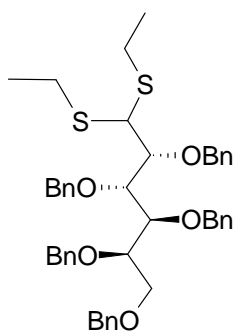
etila/hexano (1:2). O produto **3** foi obtido com 41% de rendimento (113 mg) global a partir da galactose **1**.

### 3.2.3 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-benzoil-D-galactose dietilditioacetal (**4**)

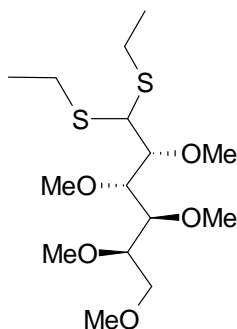


**4**

Em um balão de fundo redondo contendo 1,57 g de galactose dietilditioacetal, adicionou-se 0,067 g de dimetilaminopiridina (DMAP) e 14 mL de piridina. A mistura foi mantida a 0°C e adicionou-se lentamente 3,9 mL de cloreto de benzoila. A reação foi mantida em agitação por 30 minutos a 0 °C e posteriormente mantida a temperatura ambiente por 23 h. Em seguida, o meio de reação foi diluído com 50 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, lavado com 150 mL de HCl 1 mol/L, solução saturada NaHCO<sub>3</sub> e solução saturada de cloreto de sódio (NaCl). A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e concentrada. O material foi cristalizado em metanol a quente e posteriormente filtrado novamente. Obteve-se **4** em um rendimento de 65% (2,87 g). RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) (ppm): 8,05- 7,87 (m, 10H, *o*-Ph), 7,56-7,28 (m, 15H, *m* e *p*-Ph), 6,40 (dd, J<sub>3,4</sub>= 5,80 Hz, 1 H, H-3), 6,05-5,98 (m, 2H, H-4, H-5), 5,88 (dd, J<sub>2,3</sub>= 3,21 Hz, 1H, H-2), 4,71 (dd, J<sub>5,6a</sub>= 4,6 e J<sub>6a,6b</sub>= 11,9 Hz, 1H, H-6a), 4,60 (dd, J<sub>5,6b</sub>= 6,4 Hz, 1H, H-6b), 4,20 (d, J<sub>1,2</sub>= 7,05 Hz, 1H, H-1), 2,72-2,55 (m, 4H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,17-1,10 (m, 6H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). RMN de <sup>13</sup>C: 166,2, 165,7, 165,6, 165,5, 165,4 (5C, C=O), 133,6, 133,5, 133,4, 133,4, 133,2 (5C, C *p*-Ph), 130,4-129,9 (10C, C *o*-Ph), 129,9-129,2 (5C, C-1 Ph), 128,8-128,3 (10C, C *m*-Ph), 72,7 (1C, C-2), 70,9, 70,8, 69,8 (3C, C-3, C-4, C-5), 63,3 (1C, C-6), 52,7 (1C, C-1), 25,7, 25,5 (2C, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 14,4, 14,3 (2C, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). Rotação óptica :[α] -12,0 (c 1,0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). HRMS (ESI): *m/z* calculado para C<sub>45</sub>H<sub>42</sub>O<sub>10</sub>S<sub>2</sub>Na<sup>+</sup> 829,2111; encontrado experimentalmente: 829,2113.

3.2.4 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-benzil-D-galactose dietilditioacetal (**5**)**5**

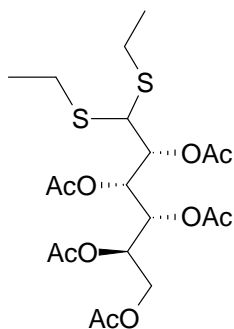
Em uma solução de 300 mg (1,05 mmol) de **2** e 850  $\mu$ l de brometo de benzila (7 mmol) em 5 ml de dimetilformamida (DMF) seca, foram adicionados 0,2 g (8,3 mmol) de hidreto de sódio, divididos em 3 porções durante uma hora (uma porção de 66,6 mg a cada 20 minutos). Após duas horas de reação, verteu-se o conteúdo em 20 g de gelo, extraíndo-se com éter etílico (3x10 ml). A fase etérea foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e concentrada (KRÜLL *et al.*, 1993). A purificação foi realizada por cromatografia em coluna utilizando Silica Gel 60 como fase estacionária e acetato de etila/hexano (1:18) como fase móvel. O rendimento obtido foi de 72% (555 mg). RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 7,39-7,27 (m, 25H, *o*, *m* e *p*-Ph), 4,83- 4,44 (m, 10H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4,32 (dd,  $J = 4,4$  e  $J = 9,9$  Hz, 1H, H-3), 4,10-4,02 (m, 2H, H-1, H-2), 3,95 (dd, 1H, H-5), 3,88 (t,  $J = 4,4$  Hz, 1H, H-4), 3,83-3,80 (m, 2H, H-6a, H-6b), 2,69 (q, 2H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 2,46 (q, 2H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 1,19 (t, 3H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 1,11 (t, 3H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$ : 139,3, 139,2, 139,0, 138,8, 138,5 (5C, C-1 Ph), 128,7-127,3 (25C, *o*, *m* e *p*-Ph), 83,7 (1C, C-2), 81,8 (1C, C-3), 79,7 (1C, C-4), 79,2 (1C, C-5), 75,4, 75,0, 73,5, 73,5, 73,3 (5 C,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 71,2 (1C, C-6), 54,8 (1C, C-1), 25,5, 25,1 (2C,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 14,7, 14,6 (2C,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ). Rotação óptica:  $[\alpha] -3,76$  (c 1,0,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{45}\text{H}_{52}\text{O}_5\text{S}_2\text{Na}^+$  759,3148; encontrado experimentalmente: 759,3168.

3.2.5 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-metil-D-galactose dietilditioacetal (**6**)**6**

A 100 mg (0,35 mmol) de galactose dietilditiacetal (**2**) foram adicionados 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) e 400 mg de hidróxido de sódio (NaOH) pulverizado. A esta mistura incorporou-se 2 mL de iodeto de metila (iodometano), sendo a mistura resultante agitada por 8 minutos a 15°C. Foram então adicionados 20 mL de água destilada e 20 mL de CHCl<sub>3</sub>. A fração clorofórmica foi lavada com água (3x de 50 ml), seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e concentrada. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizado como eluente e acetato de etila/hexano (1:6 v/v). O produto foi obtido com um rendimento de 76% (95 mg). RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) (ppm): 4,10 (d, J<sub>1,2</sub>=5,6 Hz, 1H, H-1), 3,74 (dd, J = 4,6 e J = 7,0 Hz, 1H, H-3), 3,61-3,54 (m, 1H, H-6a), 3,52-3,47(m, 3H, H-2, H-5, H-6b), 3,46, 3,39, 3,35, 3,34 (s, 12H, OCH<sub>3</sub>), 3,31 (m, 1H, H-4), 3,29 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2,73-2,56 (m, 4H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,24-1,16 (m, 6H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). RMN de <sup>13</sup>C: 83,4 (1C, C-2), 80,2 (1C, C-3), 79,8 (1C, C-4), 78,9 (1C, C-5), 71,4 (1C, C-6), 59,8, 59,6, 59,0, 58,2, 57,6 (5C, OCH<sub>3</sub>), 52,8 (1C, C-1), 24,9, 24,3 (2C, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 14,4, 14,4 (2C, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). Rotação óptica: [α] -6,23 (c 1,0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). HRMS (ESI): *m/z* calculado para C<sub>15</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>Na<sup>+</sup> 379,1583; encontrado experimentalmente: 379,1593.



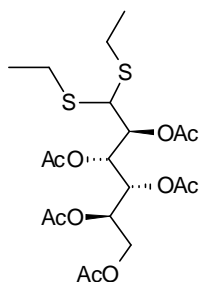
### 3.2.6 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-glucose dietilditioacetal (**8**)



**8**

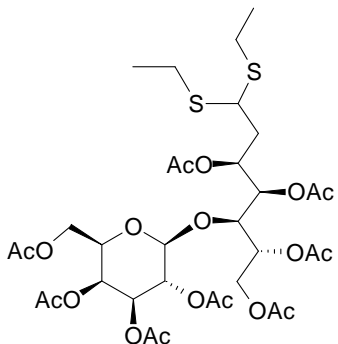
O composto **8** foi preparado a partir do composto **7** (glucose) de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **3**, método B (Seção 3.2.2, página 69). O tempo para a proteção do grupo aldeído foi de 3 h. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (1:2 v/v) R<sub>f</sub> 0,41 (98% de rendimento). RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) (ppm): 5,76 (dd, J<sub>2,3</sub>= 7,35 e J<sub>3,4</sub>= 2,8 Hz, 1H, H-3), 5,43 (dd, J<sub>4,5</sub>= 8,02 Hz, 1H, H-4), 5,28 (dd, J<sub>1,2</sub>= 4,25 Hz, 1H, H-2), 5,09-5,04 (m, 1H, H-5), 4,25 (dd, J<sub>5,6a</sub>= 2,9 e J<sub>6a,6b</sub>= 12,5 Hz, 1H, H-6a), 4,13 (dd, J<sub>5,6b</sub>= 4,8Hz, 1H, H-6b), 4,07(d, 1H, H-1), 2,86-2,49 (m, 4H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2,14, 2,09, 2,08, 2,06, 2,04 (s, 15H, COCH<sub>3</sub>), 1,33 (t, 3H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,23 (t, 3H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). Os dados espectroscópicos observados apresentam-se de acordo com a literatura (KHAN; KHAN, 2010).

### 3.2.7 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-manose dietilditioacetal (**10**)

**10**

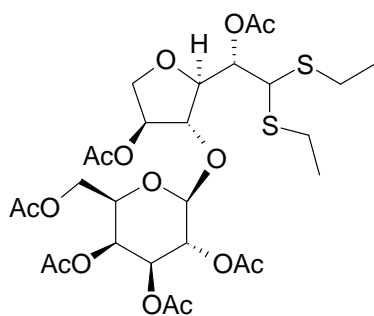
O composto **10** foi preparado a partir do composto **9** (manose) de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **3**, método B (Seção 3.2.2, página 69). O tempo para a proteção do grupo aldeído foi de 70 minutos. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (1:3 v/v) (95% de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 5,75 (dd, 1H,  $J_{3,4} = 1,6$  Hz, H-3), 5,50 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 7,2$  Hz, H-2), 5,10-5,05 (m, 1H, H-5), 4,22 (dd, 1H,  $J_{6a,6b} = 12,4$  Hz e  $J_{5,6b} = 5,2$  Hz, H-6a), 4,08 (dd, 1H,  $J_{5,6b} = 5,2$  Hz, H-6b), 3,91 (d, 1H,  $J_{1,2} = 5,6$  Hz, H-1), 2,76-2,60 (m, 4H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 2,10, 2,08, 2,08, 2,05 (s, 15H,  $\text{COCH}_3$ ), 1,30-1,21 (m, 6H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ). Os dados espectroscópicos observados apresentam-se de acordo com a literatura (KHAN; KHAN, 2010).

### 3.2.8 Preparação da 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,5,6-tetra-O-acetil-D-glucose dietilditioacetal (**12**)

**12**

O composto **12** foi preparado a partir do composto **11** (lactose) de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **3**, método B (Seção 3.2.2, página 69). O tempo para a proteção do grupo aldeído foi de 4 h. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/ciclohexano (2:3 v/v) (67% de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 5,76 (dd,  $J_{3,2}=5,7$  e  $J_{3,4}=4,5$  Hz, 1H, H-3), 5,48 (t, 1H, H-2), 5,39 (d, 1H, H-4'), 5,24-5,17 (m, 1H, H-5), 5,14 (dd,  $J_{2,3}=10,3$  Hz, 1H, H-2'), 5,02 (dd,  $J_{3,4}=3,5$  Hz, 1H, H-3'), 4,75 (d,  $J_{1,2}=7,85$  Hz, 1H, H-1'), 4,47 (dd,  $J=12,4$  e  $J=2,8$  Hz, 1H, H-6a), 4,25 (t, 1H, H-4), 4,21-4,09 (m, 4H, H-1, H-6b, H-6a', H-6b'), 3,92 (t,  $J=6,8$  Hz, 1H, H-5'), 2,79-2,62 (m, 4H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 2,15, 2,10, 2,09, 2,07, 2,07, 2,06, 1,98 (s, 24H,  $\text{COCH}_3$ ), 1,26 (dd,  $J=14,1$  e  $J=7,2$  Hz, 6H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 170,6, 170,6, 170,3, 170,3, 169,9, 169,8, 169,8, 169,4 (8 C, C=O), 100,6 (1C, C-1'), 75,5 (1C, C-4), 72,6 (1C, C-2), 71,4 (2C, C-3, C-5'), 71,1 (2C, C-3', C-5), 69,2 (1C, C-2'), 67,2 (1C, C-4'), 62,2 (1C, C-6), 61,6 (1C, C-6'), 51,5 (1C, C-1), 25,6, 24,9 (2C,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 20,9 (8C,  $\text{COCH}_3$ ), 14,6, 14,2 (2C,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ). Rotação óptica:  $[\alpha] +29,7$  (c 1,0, DMSO). HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_{18}\text{S}_2\text{Na}^+$  807,2174; encontrado experimentalmente: 807,2183.

### 3.2.9 Preparação da 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,5-di-O-acetil-3,6-anidro-L-galactose dietil ditioacetal (**15**)

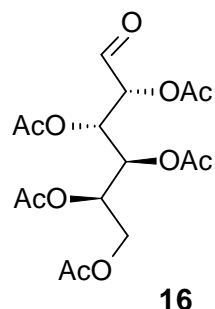


**15**

Agarose (**13**) (5,0 g) foi dissolvida em  $\text{H}_2\text{O}$  (450 mL) quente ( $\sim 90^\circ\text{C}$ ). Em seguida TFA 1 mol/L (50 mL) foi adicionado em uma única alíquota. A mistura resultante foi aquecida a  $80^\circ\text{C}$  por 3 h, resfriada a temperatura ambiente, diluída com

H<sub>2</sub>O (500 mL) e então concentrada. O resíduo resultante foi dissolvido em H<sub>2</sub>O (90 mL), diluído com álcool isopropílico (90 mL) e então filtrada em um funil com lã de vidro. O filtrado foi concentrado e coevaporado com tolueno três vezes para fornecer um material sólido (4,70 g). Este material foi dissolvido em HCl concentrado (7 mL/ 84,4 mmol) e etanol (3,1 mL/ 41,85 mmol) a 0°C. A mistura resultante foi agitada a 0°C por 1 h. Posteriormente, foram adicionados piridina (83 mL) e anidrido acético (75,5 mL). O meio de reação foi mantido sob agitação a 0°C por 1 h e em seguida deixada por 18 h a temperatura ambiente. Após este tempo, foi adicionado H<sub>2</sub>O (500 mL). O produto foi extraído com CHCl<sub>3</sub>. A fase clorofórmica foi lavada com sulfato de cobre 5%, seca (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e concentrada (DUCATTI *et al.*, 2009). O xarope obtido foi dissolvido em metanol e em seguida foi adicionado H<sub>2</sub>O até o aparecimento de turbidez na solução. O produto foi obtido na forma de cristais amarelados (46% de rendimento). RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) (ppm): 5,39 (dd, J<sub>3',4'</sub>= 3,5 e J<sub>4',5'</sub>= 1,0 Hz, 1H, H-4'), 5,35 (dd, J<sub>1,2</sub>= 9,2 e J<sub>2,3</sub>= 2,7 Hz, 1H, H-2), 5,22-5,08 (m, 2H, H-2', H-3'), 4,95 (m, 1H, H-5), 4,61 (d, J<sub>1',2'</sub>= 8,0 Hz, 1H, H-1'), 4,48 (dd, J<sub>3,4</sub>= 5,0 Hz, 1H, H-3), 4,22 (dd, J<sub>5',6b'</sub>= 7,2 Hz e H<sub>6a',6b'</sub>= 11,0 Hz, 1H, H-6b'), 4,13 (dd, J<sub>5',6a'</sub>= 6,0 Hz, 1H, H-6a'), 4,06 (d, J<sub>1,2</sub>= 9,2 Hz, 1H, H-1), 4,02-3,94 (m, 3H, H-5', H-6b, H-6a), 3,92 (dd, J<sub>4,5</sub>= 1,5 Hz, 1H, H-4), 2,78-2,57 (m, 4H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2,15, 2,15, 2,09, 2,07, 2,06, 1,98 (s, 18H, COCH<sub>3</sub>), 1,28, 1,24 (2t, 6H, J=7,5 Hz, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). Os dados espectroscópicos observados apresentam-se de acordo com a literatura (DUCATTI *et.al.*, 2009).

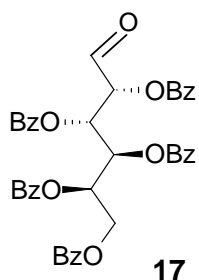
### 3.2.10 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-galactose *aldeído* (**16**)



Em uma mistura sob agitação a 0°C contendo 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-galactose dietilditioacetal (**3**) (0,1 g/ 0,2 mmol), THF (0,4 ml) e éter etílico (1 mL), uma solução de H<sub>5</sub>IO<sub>6</sub> (0,0912 g/ 0,4 mmol) em THF (0,2 mL) foram vagarosamente

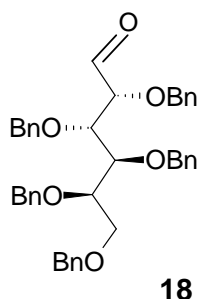
adicionados. A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente por 20 minutos, diluída com tampão fosfato 0,1 mol/L pH 7,0 e extraída com  $\text{CHCl}_3$ . A fase orgânica foi lavada com solução de sulfito de sódio 10%, seca ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e concentrada. O composto **16** foi utilizado de forma direta e imediata para o próximo passo de síntese, sem purificações adicionais.

### 3.2.11 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-benzoil-D-galactose *aldeído* (**17**)



O composto **17** foi preparado a partir do composto **4** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **16** (Seção 3.2.10, página 76). O tempo de reação da desproteção do grupo aldeído foi de 25 minutos. O composto **17** foi utilizado de forma direta e imediata para o próximo passo de síntese, sem purificações adicionais.

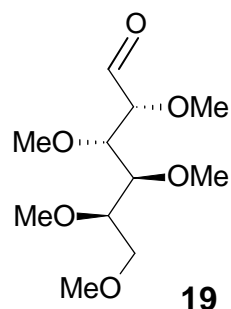
### 3.2.12 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-benzil-D-galactose *aldeído* (**18**)



O composto **18** foi preparado a partir do composto **5** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **16** (Seção 3.2.10, página 76). O tempo de reação da desproteção do grupo aldeído foi de 20 minutos. O composto **18**

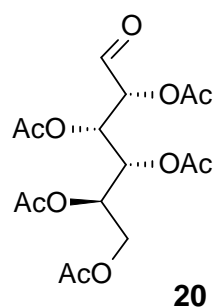
foi utilizado de forma direta e imediata para o próximo passo de síntese, sem purificações adicionais.

### 3.2.13 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-metil-D-galactose *aldeído* (**19**)



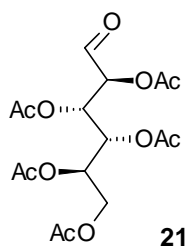
O composto **19** foi preparado a partir do composto **6** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **16** (Seção 3.2.10, página 76). O tempo de reação da desproteção do grupo aldeído foi de 20 minutos. O composto **19** foi utilizado de forma direta e imediata para o próximo passo de síntese, sem purificações adicionais.

### 3.2.14 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-glucose *aldeído* (**20**)



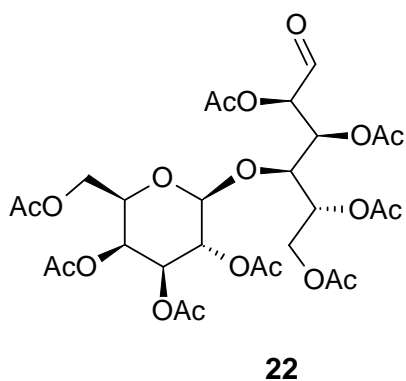
O composto **20** foi preparado a partir do composto **8** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **16** (Seção 3.2.10, página 76). O tempo de reação da desproteção do grupo aldeído foi de 20 minutos. O composto **20** foi utilizado de forma direta e imediata para o próximo passo de síntese, sem purificações adicionais.

### 3.2.15 Preparação da 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-manose *aldeído* (**21**)



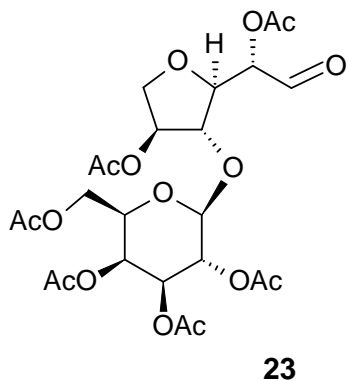
O composto **21** foi preparado a partir do composto **10** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **16** (Seção 3.2.10, página 76). O tempo de reação da desproteção do grupo aldeído foi de 20 minutos. O composto **21** foi utilizado de forma direta e imediata para o próximo passo de síntese, sem purificações adicionais.

### 3.2.16 Preparação da 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,5,6-tetra-O-acetil-D-glucose *aldeído* (**22**)



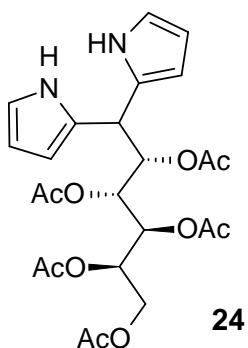
O composto **22** foi preparado a partir do composto **12** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **16**, (Seção 3.2.10, página 76). O tempo de reação da desproteção do grupo aldeído foi de 60 minutos. O composto **22** foi utilizado de forma direta e imediata para o próximo passo de síntese, sem purificações adicionais.

### 3.2.17 Preparação da 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,5-di-O-acetil-3,6-anidro-L-galactose *aldeído* (**23**)



O composto **23** foi preparado a partir do composto **15** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **16** (Seção 3.2.10, página 76). O tempo de reação da desproteção do grupo aldeído foi de 20 minutos. O composto **23** foi utilizado de forma direta e imediata para o próximo passo de síntese, sem purificações adicionais.

### 3.2.18 Otimização da síntese do 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol (**24**)

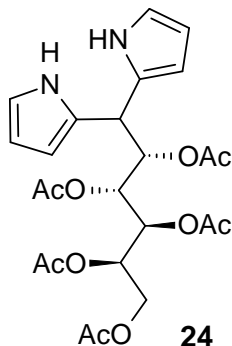


O composto **24** foi preparado num balão de fundo redondo, contendo 0,3903 g (1mmol) de 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-galactose *aldeído* (**16**), 1,74 mL de pirrol (25 mmol) e 8  $\mu$ L de TFA (0,1 mmol). A reação foi mantida sob agitação magnética por 30 minutos sob condições dadas na Tabela 2 (página 133). Em

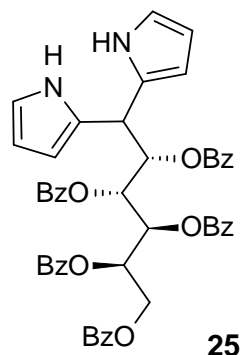


seguida, o meio de reação foi diluído com 10 mL de clorofórmio, lavado com uma solução de NaOH 0,1 mol/L, seco ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e concentrado. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (5:7 v/v).

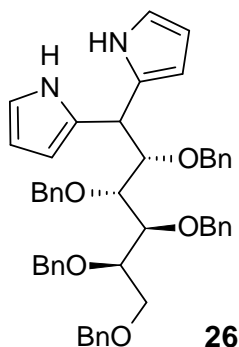
### 3.2.19 Síntese do 2,3,4,5,6-penta-*O*-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol (**24**)



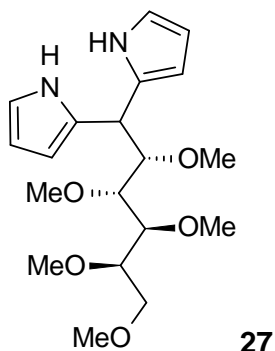
O composto **24** foi preparado num balão de fundo redondo, contendo 7,70 g (19,73 mmol) de 2,3,4,5,6-penta-*O*-acetil-D-galactose *aldeído* (**16**), 34,2 mL de pirrol (493,25 mmol) e 151  $\mu\text{L}$  de TFA (1,97 mmol). A reação foi mantida sob agitação magnética a 30°C, por 30 minutos sob ambiente de argônio. A mistura de reação foi diluída com 10 mL de clorofórmio, lavada com uma solução de NaOH 0,1 mol/L, seca ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e concentrada. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (5:7 v/v) (5,89 g, 59% de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 8,52 (b, 1H, NH), 8,26 (b, 1H, NH'), 6,71 (b, 1H, H-1 pirrol), 6,68 (b, 1H, H-1' pirrol), 6,13 (b, 1H, H-2 pirrol), 6,12 (b, 1H, H-2' pirrol), 6,05 (b, 1H, H-3 pirrol), 6,02 (b, 1H, H-3' pirrol), 5,49-5,40 (m, 2H, H-2, H-3), 5,27 (dd,  $J = 9,5$  e  $J = 1,0$  Hz, 1H, H-4), 5,24-5,18 (m, 1H, H-5), 4,32 (d,  $J_{1,2} = 6,6$  Hz, 1H, H-1), 4,27 (dd,  $J_{6a,6b} = 11,8$  e  $J_{5,6b} = 4,7$  Hz, 1H, H-6a), 3,79 (dd,  $J_{5,6b} = 7,5$  Hz, 1H, H-6b), 2,09, 2,01, 2,01, 2,00, 1,91 (5s, 15H,  $\text{COCH}_3$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 171,2, 170,7, 170,5, 170,2, 170,0 (5C, C=O), 128,9 (1C, C-4 pirrol), 127,6 (1C, C-4' pirrol), 118,1 (1C, C-1 pirrol), 117,8 (1C, C-1' pirrol), 108,9 (1C, C-2, pirrol), 108,7 (1C, C-3 pirrol), 108,5 (2C, C-2' pirrol), 106,9 (1C, C-3' pirrol), 71,8 (1C, C-2), 69,0 (1C, C-3), 68,4 (1C, C-4), 68,1 (1C, C-5), 62,6 (1C, C-6), 39,9 (1C, C-1), 21,0, 20,9, 20,9, 20,8, 20,8 (5C,  $\text{COCH}_3$ ). Rotação óptica:  $[\alpha] +12,0$  (c 0,5,  $\text{CHCl}_3$ ). HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Na}^+$  529,1792; encontrado experimentalmente: 529,1779.

3.2.20 Síntese do 2,3,4,5,6-penta- O-benzoil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol (**25**)

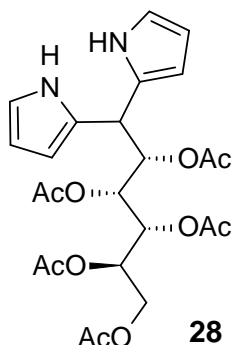
O composto **25** foi sintetizado a partir do composto **17** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **24** a partir do **16** (Seção 3.2.19, página 81), com tempo de condensação de 100 minutos. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (1:3 v/v) (85% de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO) (ppm): 10,75 (b, 1H, NH), 10,51 (b, 1H, NH'), 8,01-7,22 (m, 25H, *o*, *m* e *p*-Ph), 6,63 (b, 1H, H-1pirrol), 6,43 (b, 1H, H-1'pirrol), 6,27 (b, 1H, H-2), 6,02 (b, 1H, H-3 pirrol), 5,97-5,87 (m, 4H, H-2 pirrol, H-3' pirrol, H-4, H-5), 5,72 (b, 1H, H-2' pirrol), 5,61 (b, 1H, H-3), 4,75 (dd,  $J_{5,6a} = 3,1$  e  $J_{6a,6b} = 12,4$  Hz, 1H, H-6a), 4,55 (d,  $J_{1,2} = 10,2$  Hz, 1H, H-1), 4,36 (dd,  $J_{5,6b} = 5,5$  Hz, 1H, H-6b). RMN de  $^{13}\text{C}$ : 165,2, 164,9, 164,8, 164,7, 164,5 (5C, C=O), 133,7-132,8 (10C, C *o*-Ph), 129,7-128,0 (27C, C-1 Ph, C-4 pirrol, C-4'pirrol, *m* e *p*-Ph), 117,5 (1C, C-1 Pirrol), 116,6 (1C, C-1'pirrol), 107,4 (1C, C-2' pirrol), 107,0 (1C, C-2 pirrol), 105,8 (2C, C-3 pirrol, C-3' pirrol), 72,2 (1C, C-2), 70,3 (1C, C-4), 69,7 (1C, C-3), 69,7 (1C, C-5), 62,7 (1C, C-6), 39,3 (1C, C-1). Rotação óptica:  $[\alpha] +106,5$  (*c* 1,0,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{49}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Na}^+$  839,2575; encontrado experimentalmente: 839,2587.

3.2.21 Síntese do 2,3,4,5,6-penta-*O*-benzil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol (**26**)

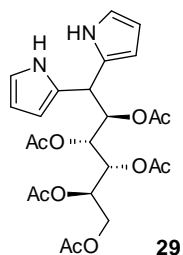
O composto **26** foi sintetizado a partir do composto **18** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **24** a partir do **16** (Seção 3.2.19, página 81), com tempo de condensação de 25 minutos. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (1:10 v/v) (65% de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO) (ppm): 10,59 (b, 1H, NH), 10,56 (b, 1H, NH'), 7,37-7,00 (m, 25H, *o*, *m* e *p*-Ph), 6,69 (b, 2H, H-1pirrol, H-1'pirrol), 6,08-5,94 (m, 4H, H-2pirrol, H-2'pirrol, H-3pirrol, H-3'pirrol), 4,72-4,35 (b, 10H, H-1,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4,32 (dd,  $J = 2,8$  e  $8,9$  Hz, 1H, H-2), 4,00-3,92 (m, 2H, H-4, H-5), 3,86-3,81 (b, 2H, H-3,  $\frac{1}{2}$  H- $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 3,74-3,64 (m, 2H, H-6a, H-6b). RMN de  $^{13}\text{C}$ : 138,9, 138,8, 138,7, 138,7, 138,2 (5C, C-1 Ph), 131,5, 131,5 (2C, C-4 pirrol, C-4'pirrol), 128,4-126,8 (25C, *o*, *m* e *p*-Ph), 116,3, 116,1 (2C, C-1 pirrol, C-1' pirrol), 107,2, 107,1, 106,1, 105,1 (4C, C-2pirrol, C-2'pirrol, C-3pirrol, C-3'pirrol), 82,1 (1C, C-2), 78,7 (1C, C-3), 78,4, 78,0 (2C, C-4, C-5), 73,2, 72,9, 72,6, 72,3, 71,6 (5C,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 69,6 (1C, C-6), 39,8 (1C, C-1). Rotação óptica:  $[\alpha] +107,0$  ( $c$  1,0,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{49}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}^+$  769,3611; encontrado experimentalmente: 769,3631.

3.2.22 Síntese do 2,3,4,5,6-penta-*O*-metil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol (**27**)

O composto **27** foi sintetizado a partir do composto **19** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **24** a partir do **16** (Seção 3.2.19, página 81), com tempo de condensação de 220 minutos. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (1:10 v/v) (37% de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO) (ppm): 10,54 (b, 1H, NH), 10,44 (b, 1H, NH'), 6,58 (b, 2H, H-1 pirrol, H-1'pirrol), 5,93-5,89 (m, 2H, H-2 pirrol, H-2'pirrol), 5,88-5,84 (m, 2H, H-3 pirrol, H-3'pirrol), 4,25 (d,  $J_{1,2}=9,53$  Hz, 1H, H-1), 3,76 (dd,  $J_{2,3}=2,3$  Hz, 1H, H-2), 3,55-3,48 (m, 1H, H-6a), 3,46-3,38 (m, 2H, H-5, H-6b), 3,34 (b, 1H, H-4), 3,30, 3,26, 3,26, 3,21 (s, 12H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,14 (dd,  $J_{3,4}=8,06$  Hz, 1H, H-3), 2,88 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$ : 131,9, 131,4 (2C, C-4 pirrol, C-4'pirrol), 116,0 (2C, C-1 pirrol, C-1'-pirrol), 107,0, 106,7, 105,6, 104,8 (4C, C-2 pirrol, C-2'pirrol, C-3 pirrol, C-3'pirrol), 83,2 (1C, C-2), 79,6 (1C, C-3) 79,1 (1C, C-4), 78,5 (1C, C-5), 71,1 (C-6), 59,7, 58,8, 58,5, 58,2, 57,1 (5C,  $\text{OCH}_3$ ), 39,4 (1C, C-1). Rotação óptica:  $[\alpha] +105,7$  (c 1,0,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{45}\text{H}_{42}\text{O}_{10}\text{S}_2\text{Na}^+$  389,2047; encontrado experimentalmente: 389,2055.

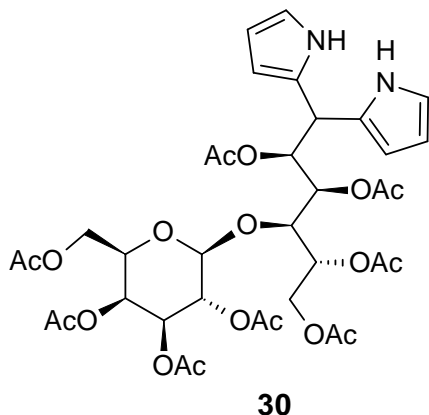
3.2.23 Síntese do 2,3,4,5,6-penta-*O*-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-glucitol (**28**)

O composto **28** foi sintetizado a partir do composto **20** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **24** a partir do **16** (Seção 3.2.19, página 81), com tempo de condensação de 30 minutos. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (5:7 v/v) (50% de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO) (ppm): 10,49 (b, 1H, NH), 10,39 (b, 1H, NH'), 6,62 (d, 1H,  $J = 1,6$  Hz, H-1 pirrol), 6,58 (d, 1H,  $J = 1,6$  Hz, H-1' pirrol), 5,95-5,86 (m, 4H, H-2, H-2', H-3, H-3' pirrol), 5,43 (dd,  $J_{2,3} = 5,2$  Hz, 1H, H-2), 5,20 (dd,  $J = 6,2$  e  $J = 4,8$  Hz, 1H, H-4), 5,00-4,91 (m, 2H, H-3, H-5), 4,27 (d,  $J_{1,2} = 7,4$  Hz, 1H, H-1), 4,10 (dd,  $J = 12,2$  e  $J = 3,1$  Hz, 1H, H-6a), 4,06-3,99 (m, 1H, H-6b), 2,05 2,00, 1,99, 1,89, 1,88 (s, 15H,  $\text{COCH}_3$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO) (ppm): 169,9, 169,5, 169,2, 169,0, 169,0 (5C, C=O), 128,6 (1C, C-4 pirrol), 128,3 (1C, C-4' pirrol), 117,2 (1C, C-1 pirrol), 116,9 (1C, C-1' pirrol), 107,3, 106,8, 106,5, 105,6 (4C, C-2, C-3, C-2', C-3' pirrol), 72,3 (1C, C-2), 69,1 (1C, C-3), 68,7 (1C, C-4), 68,6 (1C, C-5), 60,9 (1C, C-6), 38,8 (1C, C-1), 20,4-20,3 (5C,  $\text{COCH}_3$ ). Rotação óptica:  $[\alpha] -15,9$  ( $c$  1,0, DMSO). HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Na}^+$  529,1792; encontrado experimentalmente: 529,1768.

3.2.24 Síntese do 2,3,4,5,6-penta-*O*-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-manitol (**29**)

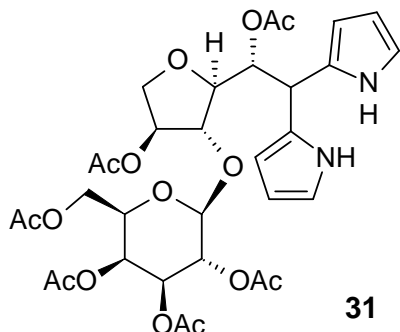
O composto **29** foi sintetizado a partir do composto **21** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **24** a partir do **16** (Seção 3.2.19, página 81), com tempo de condensação de 30 minutos. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (5:7 v/v) (50% de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO) (ppm): 10,64 (b, 1H, NH pirrol), 10,35 (b, 1H, NH' pirrol), 6,63 (b, 1H, H-1 pirrol), 6,55 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H, H-1' pirrol), 5,98-5,88 (m, 2H, H-2, H-3 pirrol), 5,88-5,79 (m, 2H, H-2', H-3' pirrol), 5,56 (dd,  $J_{2,3} = 5,7$  Hz, 1H, H-2), 5,42 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-4), 4,95-4,84 (m, 2H, H-3, H-5), 4,34 (d,  $J_{1,2} = 8,8$  Hz, 1H, H-1), 4,08 (dd,  $J = 12,4$  e  $J = 2,6$  Hz, 1H, H-6a), 4,04-3,97 (m, 1H, H-6b), 2,07, 1,99, 1,89, 1,82, 1,82 (s, 15H,  $\text{COCH}_3$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO) (ppm): 170,0, 169,5, 169,1, 169,1, 169,1 (5C, C=O), 129,0 (1C, C-4 pirrol), 128,5 (1C, C-4' pirrol), 117,3 (1C, C-1 pirrol), 116,9 (1C, C-1' pirrol), 107,1 (1C, C-2 pirrol), 106,9 (1C, C-2' pirrol), 106,0 (1C, C-3 pirrol), 105,8 (1C, C-3' pirrol), 72,0 (1C, C-2), 68,8 (1C, C-3), 67,7 (1C, C-5), 66,6 (1C, C-4), 61,3 (1C, C-6), 38,8 (1C, C-1), 20,7, 20,5, 20,4, 20,4, 20,4 (5C,  $\text{COCH}_3$ ). Rotação óptica:  $[\alpha] +19,5$  (c 1,0, DMSO). HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Na}^+$  529,1792; encontrado experimentalmente: 529,1773.

### 3.2.25 Síntese do 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,5,6-tetra-*O*-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-glucitol (**30**)



O composto **30** foi sintetizado a partir do composto **22** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **24** a partir do **16** (Seção 3.2.19, página 81), com tempo de condensação de 30 minutos. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (1:1 v/v) (33% de rendimento); RMN de  $^1\text{H}$ (DMSO) (ppm): 10,31 (b, 1H, NH), 10,27 (b, 1H, NH'), 6,62 (b, 1H, H-1 pirrol), 6,55 (b, 1H, H-1' pirrol), 5,97-5,85 (m, 4H, H-2, H-3, H-2', H-3' pirrol), 5,56 (t,  $J = 6,0$  Hz, 1H, H-2), 5,24 (d,  $J = 3,5$  Hz, 1H, H-4'), 5,18 (dd,  $J = 9,5$  e  $J = 3,5$  Hz, 1H, H-3'), 5,01-4,95 (m, 1H, H-5), 4,93-4,82 (m, 3H, H-3, H-1', H-2'), 4,40 (d,  $J = 6,8$  Hz, 1H, H-1), 4,25 (t,  $J = 6,5$  Hz, 1H, H-5'), 4,14 (dd,  $J = 12,0$  e  $J = 2,5$  Hz, 1H, H-6a'), 4,08 (t,  $J = 4,8$  Hz, 1H, H-4), 4,05-3,89 (m, 3H, H-6a, H-6b, H-6b'), 2,13, 2,00, 1,98, 1,97, 1,97, 1,97, 1,91, 1,89 (s, 24H,  $\text{COCH}_3$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO) (ppm): 170,0, 169,9, 169,8, 169,5, 169,4, 169,1, 169,1, 168,8 (8C, C=O), 129,0 (1C, C-4 pirrol), 128,4 (1C, C-4' pirrol), 117,2 (1C, C-1 pirrol), 116,8 (1C, C-1' pirrol), 107,2, 106,9, 106,8 (3C, C-2, C-2', C-3 pirrol), 105,1 (1C, C-3' pirrol), 99,8 (1C, C-1'), 75,8 (1C, C-4), 72,4 (1C, C-2), 70,4 (1C, C-3'), 70,1, 69,9 (2C, C-5, C-5'), 69,9 (1C, C-3), 69,0 (1C, C-2'), 67,1 (1C, C-4'), 61,1, 61,1 (2C, C-6, C-6'), 38,3 (1C, C-1), 20,5, 20,5, 20,4, 20,4, 20,3, 20,3, 20,3, 20,3 (8C,  $\text{COCH}_3$ ). Rotação óptica:  $[\alpha] -6,51$  (c 0,3, DMSO). HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_{18}\text{Na}^+$  817,2638; encontrado experimentalmente: 817,2648.

### 3.2.26 Preparação do 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,5-di-O-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-3,6-anidro-L-galactitol (**31**)

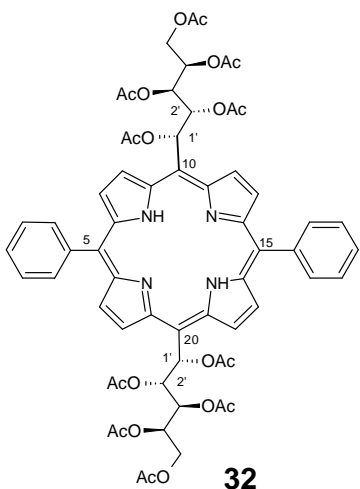


O composto **31** foi sintetizado a partir do composto **23** de acordo com o procedimento descrito na preparação do composto **24** a partir do **16** (Seção 3.2.19, página 81), com tempo de condensação de 30 minutos. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (1:1 v/v) (41% de rendimento); RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 8,47 (b, 1H, NH), 8,44 (b, 1H, NH'), 6,64 (b, 2H, H-1, H-1' pirrol), 6,13-6,02 (m, 4H, H-2, H-3, H-2', H-3' pirrol), 5,67 (dd,  $J_{2,3} = 3,7$  Hz, 1H, H-2), 5,39 (d,  $J = 3,1$  Hz, 1H, H-4'), 5,13 (dd,  $J_{2',3'} = 10,4$  Hz, 1H, H-2'), 5,00 (dd,  $J_{3',4'} = 3,4$  Hz, 1H, H-3'), 4,94 (d,  $J = 4,2$  Hz, 1H, H-4), 4,60 (d,  $J_{1',2'} = 7,9$  Hz, 1H, H-1'), 4,53 (d,  $J_{1,2} = 8,5$  Hz, 1H, H-1), 4,20 (dd,  $J_{6a',6b'} = 11,4$  e  $J_{5',6a} = 6,0$  Hz, 1H, H-6a'), 4,13 (dd,  $J_{5',6b'} = 6,7$  Hz, 1H, H-6b'), 3,98-3,91 (m, 3H, H-5, H-6a, H-5'), 3,91-3,84 (m, 2H, H-3, H-6b), 2,14, 2,06, 2,03, 1,96, 1,96, 1,91 (s, 18H,  $\text{COCH}_3$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 171,0, 170,8, 170,5, 170,4, 170,2, 169,7 (6C, C=O), 129,1 (1C, C-4 pirrol), 128,8 (1C, C-4' pirrol), 117,5 (2C, C-1, C-1' pirrol), 108,8 (1C, C-2 pirrol), 108,4 (1C, C-2' pirrol), 107,5 (1C, C-3 pirrol), 106,9 (1C, C-3' pirrol), 101,7 (1C, C-1'), 85,8 (1C, C-5), 83,8 (1C, C-3), 79,8 (1C, C-4), 73,4 (1C, C-2), 71,3 (1C, C-5'), 71,2 (1C, C-6), 70,9 (1C, C-3'), 68,9 (1C, C-2'), 67,4 (1C, C-4'), 61,6 (1C, C-6'), 39,7 (1C, C-1), 21,0, 20,8, 20,7, 20,7, 20,7, 20,7 (6C,  $\text{COCH}_3$ ). Rotação óptica:  $[\alpha] +16,4$  (c 1,0, DMSO). HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_{15}\text{Na}^+$  715,2321; encontrado experimentalmente: 715,2300.



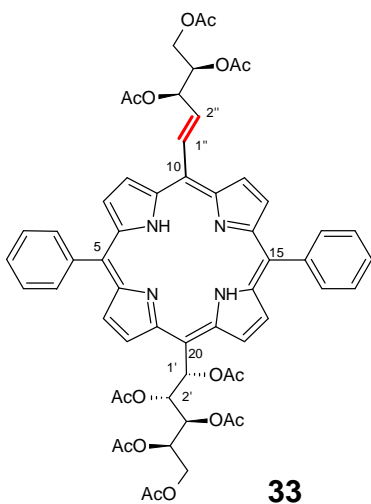
### 3.3 SÍNTESE DE DERIVADOS PORFIRÍNICOS

#### 3.3.1 Otimização da síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (**32**)



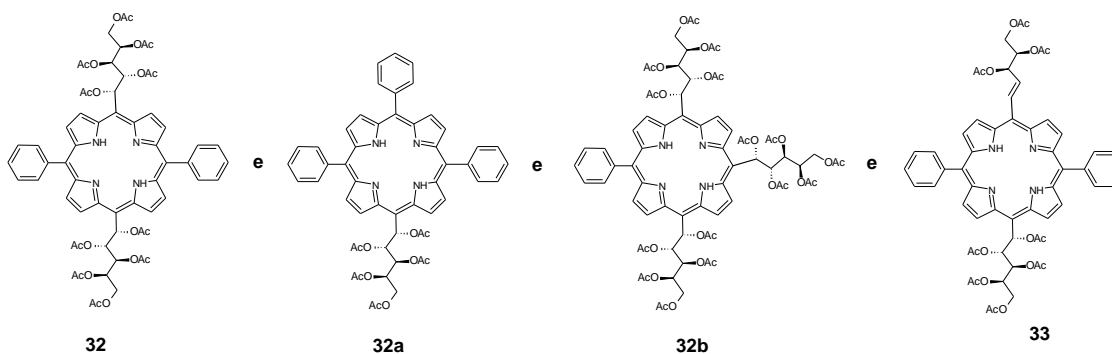
Em um balão de fundo redondo foram adicionados 10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0,5065 g (1mmol) dipirrometano **24**,  $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$  (7 mmol/L; 0,07 mmol) e gotejado lentamente 100  $\mu\text{L}$  (1 mmol) de benzaldeído. A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética nas condições de condensação estabelecidas na Tabela 3 (página 139). Posteriormente, foi adicionado 11  $\mu\text{L}$  (0,07 mmol) de trietilamina e o  $\text{SeO}_2$  (quantidade e temperatura de oxidação de acordo com Tabela 3). Após uma hora de oxidação (30 min para Entrada 7, Tabela 3), a reação foi interrompida filtrando-se o meio de reação em Celite. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida. Em seguida, procedeu-se a purificação do produto em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (1:2 v/v).

3.3.2 Otimização da síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''*E*)-1''-enil-3'',4'',5''-tri-*O*-acetil-D-lixitol]-20-[1'-C-(1'*S*)-1',2',3',4',5'-penta-*O*-acetil-D-lixitol]porfirina (**33**)



Em um balão de fundo redondo foi adicionado solvente ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ou  $\text{CHCl}_3$ ), dipirrometano **24**, benzaldeído e ácido (TFA ou  $\text{BF}_3$ ). A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética nas condições de condensação dadas na Tabela 4 (página 145). Posteriormente, foi adicionado trietilamina e o agente oxidante ( $\text{SeO}_2$  ou DDQ) (quantidade e temperatura de oxidação de acordo com Tabela 4). Após o tempo de oxidação estabelecido na Tabela 4, a reação foi interrompida filtrando-se o meio de reação em Celite. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida. Em seguida, procedeu-se a purificação do produto em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (1:2).

3.3.3 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (**32**); da 5, 10, 15-[tris(fenil)]-20-[1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol]porfirina (**32a**) e da 5-fenil-10, 15, 20-[tris(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (**32b**).



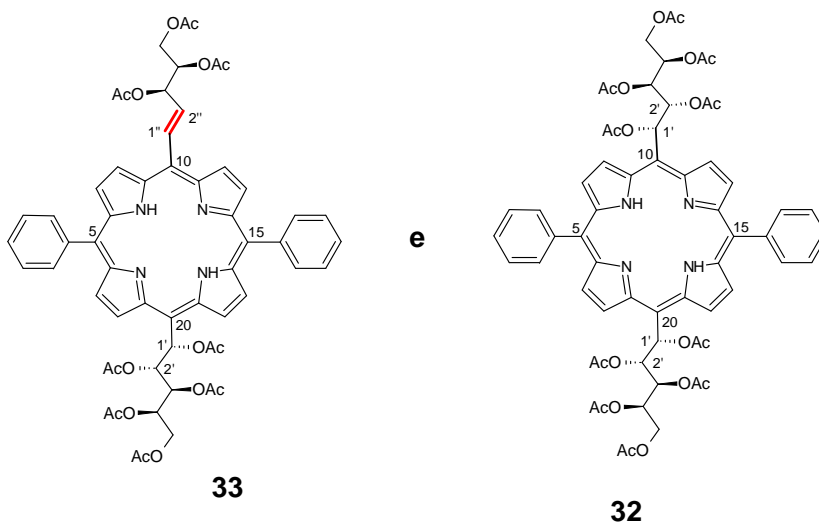
Em um balão de fundo redondo foram adicionados 10 mL de  $\text{CHCl}_2$ , 0,5065 g de dipirrometano **24** e  $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$  (7 mmol/L; 0,07 mmol). Nesta mistura foi gotejado lentamente 100  $\mu\text{L}$  de benzaldeído (1mmol). O meio de reação foi mantido sob agitação magnética por 30 minutos a 60 °C. Após esse tempo, foi adicionado 11  $\mu\text{L}$  de trietilamina (0,07 mmol) e 0,5548 g de  $\text{SeO}_2$  (5 mmol). Após uma hora, a reação foi interrompida filtrando-se o meio de reação em Celite. O filtrado foi concentrado a pressão reduzida. Em seguida, procedeu-se a purificação do produto em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (1:2 v/v). A primeira fração coletada corresponde ao composto **32a**. As frações seguintes correspondem aos compostos **33**, **32**, **32b** respectivamente. O rendimento obtido para o composto **32** foi de 22% (130 mg). Já os compostos **32a**, **32b** e **33** o rendimento foi <1%. Composto **32** RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 9,88-9,83 (d, 2H, H- $\beta$ -pirrol), 9,63-9,57 (d, 2H, H- $\beta$ -pirrol), 8,98-8,85 (m, 4H, H- $\beta'$ -pirrol), 8,65 (b, 2H, H-1'), 8,38-8,02 (b, 4H, *o*-Ph), 7,90-7,69 (b, 6H, *m* e *p*-Ph), 6,59-6,31 (b, 2H, H-2'), 5,80 (b, 2H, H-3'), 5,49 (b, 2H, H-4'), 4,21 (dd, 2H, H-5'a), 3,75 (b, 2H, H-5'b), 2,36-1,2 (b, 30H,  $\text{COCH}_3$ ), -2,86 (s, 2H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 135,7-130,9 (4C, C- $\beta'$ -pirrol), 134,4 (2C, *o*-Ph), 131,8-126,0 (4C, C- $\beta$ -pirrol), 128,9-125,7 (6C, *m* e *p*-Ph), 74,3 (2C, C-1'), 73,0 (2C, C-2'), 69,6 (2C, C-3'), 68,1 (2C, C-4'), 62,2 (2C, C-5'), 30,7-18,9 (10C,  $\text{COCH}_3$ ). Não foram assinalados C meso, C'meso e C=O (assinalamento  $^{13}\text{C}$  realizado com

base no experimento de HSQC). Rotação óptica:  $[\alpha] +15,1$  ( $c$  1,0,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 416. ESIMS:  $m/z$  1184  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{62}\text{H}_{62}\text{N}_4\text{O}_{20}\text{Na}^+$  1205,3825; encontrado experimentalmente: 1205,3878.

Composto **32a** RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ) (ppm): 9,94 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,75 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 8,97 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,94 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,84 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,81 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,79 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,75 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,58 (d, 1H,  $J_{1',2'} = 4,60$  Hz, H-1'), 8,30-8,12 (b, 6H,  $o$ -Ph), 7,92-7,77 (b, 9H,  $m$  e  $p$ -Ph), 6,25 (dd, 1H,  $J_{2',3'} = 9,01$  Hz, H-2'), 5,82 (dd, 1H, H-3'), 5,46-5,41 (b, 1H, H-4'), 4,15 (dd, 1H,  $J_{4',5'a} = 4,50$  Hz e  $J_{5'a,5'b} = 11,85$  Hz, H-5'a), 3,81 (dd, 1H,  $J_{4',5'b} = 7,20$  Hz, H-5'b), 2,26, 1,79, 1,76, 1,64, 1,38 (s, 15H,  $\text{COCH}_3$ ), -2,99 (s, 2H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$ : 170,0, 169,8, 169,5, 169,1, 168,7 (5C, C=O), 141,4, 141,3, 140,6 (3C, C-1Ph), 134,1 (6C,  $o$ -Ph), 128,1 (3C,  $p$ -Ph), 133,5-129,8, 127,7 (8C, C- $\beta$ , C- $\beta'$ pirrol), 127,2- 126,9 (6C,  $m$ -Ph), 121,1, 120,3, 119,8 (3C, C- $meso$ ), 110,9 (1C, C- $meso$  açúcar), 73,9 (1C, C-1'), 72,7 (1C, C-2'), 69,1 (1C, C-3'), 67,7 (1C, C-4'), 61,8 (1C, C-5'), 20,8, 20,3, 20,2, 20,1, 19,6 (5C,  $\text{COCH}_3$ ). UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 417. Rotação óptica:  $[\alpha] +41,9$  ( $c$  1,0,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{53}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{H}^+$  899,3286; encontrado experimentalmente: 899,3241.

Composto **32b** : UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 417. HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{71}\text{H}_{78}\text{N}_4\text{O}_{30}\text{Na}^+$  1489,4593; encontrado experimentalmente: 1489,4527.

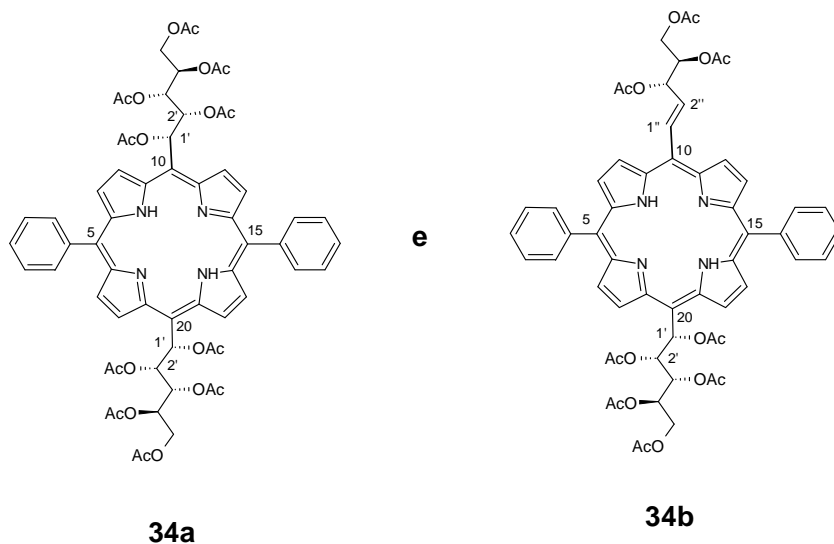
### 3.3.4 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''*E*)-1''-enil-3'',4'',5''-tri-*O*-acetil-D-lixitol]-20-[1'-C-(1'*S*)-1',2',3',4',5'-penta-*O*-acetil-D-lixitol]porfirina (**33**)



Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,3018 g de dipirrometano **24**, 128,4 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 61 µL de benzaldeído e 48,2 µL de TFA. A mistura reacional foi mantida sob agitação por 3 horas a temperatura ambiente. Após este tempo, foi adicionado 90 µL de trietilamina e 1,015 g de SeO<sub>2</sub>. Após uma hora, a reação foi interrompida filtrando-se o meio reacional em Celite. O filtrado foi concentrado a pressão reduzida. Em seguida, procedeu-se a purificação do produto em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano (1:2 v/v). A primeira fração coletada corresponde ao composto **33**. A fração seguinte corresponde ao composto **32**. Nestas condições o rendimento obtido para os compostos **32** e **33** foram de 6% (21,1 mg) e 4% (12,7 mg) respectivamente.

Composto **33** RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) (ppm): 9,92 (d, 1H, H-β pirrol), 9,73 (d, 1H, H-β pirrol), 9,50 (d, 1H, H-β pirrol), 9,46 (d, 1H, H-β pirrol), 9,23 (d, J<sub>1',2'</sub>=15,6 Hz, 1H, H-1''), 8,95 (d, 1H, H-β' pirrol), 8,92 (d, 1H, H-β' pirrol), 8,86 (d, 1H, H-β' pirrol), 8,80 (d, 1H, H-β' pirrol), 8,56 (d, J<sub>1',2'</sub>= 4,61 Hz, 1H, H-1'), 8,29-8,15 (m, 4H, *o*-Ph), 7,91-7,79 (m, 6H, *m* e *p*-Ph), 6,52 (dd, J<sub>2'',3''</sub>=6,70 Hz, 1H, H-2''), 6,26 (dd, J<sub>2',3'</sub>= 9,1 Hz, 1H, H-2'), 6,22-6,18 (m, 1H, H-3''), 5,85-5,80 (m, 1H, H-3'), 5,75-5,70 (m, 1H, H-4''), 5,48-5,43 (m, 1H, H-4'), 4,56 (dd, J<sub>4'',5''a</sub>= 3,79 e J<sub>5''a,5''b</sub>= 12 Hz, 1H, H-5''a), 4,44 (dd, J<sub>4'',5''b</sub>= 6,8 Hz, 1H, H-5''b), 4,17 (dd, J<sub>4',5'a</sub>= 4,4 e J<sub>5'a,5'b</sub>= 11,8 Hz, 1H, H-5'a), 3,84 (dd, J<sub>4',5'b</sub>= 7,2 Hz, 1H, H-5'b), 2,34, 2,27, 2,19, 2,09, 1,80, 1,77, 1,66, 1,41 (s, 24H, COCH<sub>3</sub>), -2,87 (b, 2H, NH). RMN de <sup>13</sup>C: 170,2, 170,1, 170,0, 170,0, 169,8, 169,6, 169,2, 168,7 (8C, C=O), 141,4, 141,3 (2C, C-1 Ph), 137,9 (1C, C-2''), 134,2 (4C, *o*-Ph), 133,4 (1C, C-1''), 133,2- 128,8, 127,6 (8C, C-β, C-β'pirrol) 128,2, 128,1 (2C, *p*-Ph), 126,9 (4C, *m*-Ph), 120,4, 120, 0 (2C, C-*meso*), 116,5, 111,1 (2C, C *meso* açúcar), 73,8 (1C, C-1'), 72,9 (1C, C-3''), 72,7 (1C, C-2'), 71,1 (1C, C-4''), 69,1 (1C, C-3'), 67,7 (1C, C-4'), 62,2 (1C, C-5''), 61,9 (1C, C-5'), 20,9, 20,8, 20,7, 20,5, 20,3, 20,2, 20,1, 19,7 (8C, COCH<sub>3</sub>). Rotação óptica: [α] +110,66 (c 1,0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). UV-vis (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) λ<sub>max</sub> (nm): 419. HRMS (ESI): *m/z* calculado para C<sub>58</sub>H<sub>56</sub>N<sub>4</sub>O<sub>16</sub>H<sup>+</sup> 1065,3764; encontrado experimentalmente: 1065,3766.

3.3.5 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-xilitol)]porfirina (**34a**) e 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''E)-1''-enil-3'',4'',5''-tri-O-acetil-D-xilitol]-20-(1'-C,1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-xilitol]porfirina (**34b**)

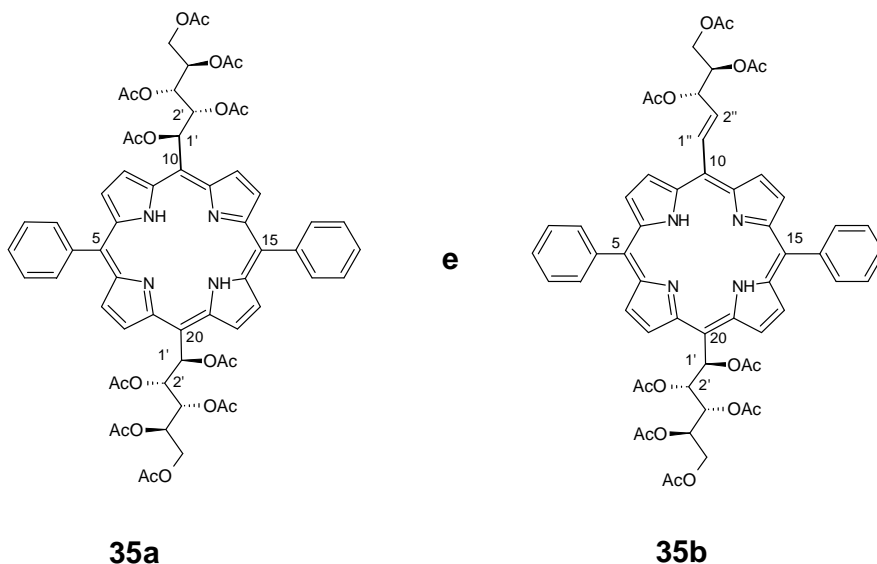


As glicoporfirinas **34a** e **34b** foram sintetizadas a partir do composto **28** de acordo com os procedimentos descritos (Seção 3.3.3 e 3.3.4, páginas 91 e 92) na preparação dos compostos **32** e **33** a partir do **24**. Composto **34a** RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO) (ppm): 9,91 (d, 2H, H- $\beta$  pirrol), 9,88 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,86 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 8,99-8,88 (m, 4H, H- $\beta'$  pirrol), 8,46 (t,  $J_{1',2'} = 9,1$  Hz, 2H, H-1'), 8,39, 8,24, 8,20, 8,04 (d, 4H, *o*-Ph), 7,99-7,78 (b, 6H, *m* e *p*-Ph), 6,87 (d, 1H, H-2'), 6,81 (d, 1H, H-2'), 4,90 (dd, 1H, H-4'), 4,81 (dd, 1H, H-4'), 4,11 (d, 1H, H-3'), 3,79 (d, 1H, H-3'), 3,77 (d, 1H, H-5'a), 3,65 (dd,  $J_{4',5'a} = 4,3$  Hz, 1H, H-5'a), 3,53 (dd,  $J_{4',5'b} = 6,47$  e  $J_{5'a,5'b} = 12,0$  Hz, 1H, H-5'b), 3,44 (dd, 1H, H-5'b), 2,27, 2,24, 2,21, 2,19, 2,15, 2,12, 1,86, 1,85, 1,20, 0,99 (s, 30H,  $\text{COCH}_3$ ), -3,08 (2H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$ : 170,2, 170,2, 170,2, 170,1, 170,0, 169,3, 169,2, 169,2, 168,8, 168,6 (10C, C=O), 141,3 (2C, C-1Ph), 134,2 (4C, *o*-Ph), 133,3-128,5 (8C, C- $\beta$ , C- $\beta'$ pirrol), 128,3 (2C, *p*-Ph), 127,0 (4C, *m*-Ph), 120,5 (2C, C-meso), 110,5 (2C, C-meso açúcar), 74,8, 74,5 (2C, C-1'), 73,4, 73,1 (2C, C-2'), 67,7, 67,9, 67,9, 68,2 (4C, C-3', C-4'), 60,9 (2C, C-5'), 20,9, 20,9, 20,8, 20,8, 20,7, 20,6, 20,5, 20,3, 20,3, 19,3 (10C,  $\text{COCH}_3$ ). Rotação óptica:  $[\alpha] +204,86$  (c 1,0,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 416. HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{62}\text{H}_{62}\text{N}_4\text{O}_{20}\text{Na}^+$  1205,3849; encontrado experimentalmente: 1205,3878. De

acordo com os procedimentos descritos na Seção 3.3.3 e 3.3.4 os rendimentos alcançados foram de 13% e 6% respectivamente.

Composto **34b** RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO) (ppm): 9,87 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,82 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,56 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,53 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,29 (d,  $J_{1'',2''}=15,7$  Hz, 1H, H-1''), 8,94 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,89 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,86 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,83 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,45 (d,  $J_{1',2'}=9,17$  Hz, 1H, H-1'), 8,34, 8,26, 8,14, 8,09 (d, 4H, *o*-Ph), 7,93-7,79 (m, 6H, *m* e *p*-Ph), 6,86 (dd,  $J_{2',3'}=1,6$  Hz, 1H, H-2'), 6,56 (dd,  $J_{2'',3''}=6,8$  Hz, 1H, H-2''), 6,19-6,16 (m, 1H, H-3''), 5,67-5,63 (m, 1H, H-4''), 4,87-4,83 (m, 1H, H-4'), 4,69 (dd,  $J_{4'',5''a}=3,5$  e  $J_{5''a,5''b}=12,4$  Hz, 1H, H-5''a), 4,44 (dd,  $J_{4'',5''b}=7,1$  Hz, 1H, H-5''b), 3,95 (b, 1H, H-3'), 3,71 (dd,  $J_{4',5'a}=4,6$  e  $J_{5'a,5'b}=12,2$  Hz, 1H, H-5'a), 3,47 (dd,  $J_{4',5'b}=6,5$  Hz, 1H, H-5'b), 2,29, 2,24, 2,20, 2,18, 2,09, 2,05, 1,85, 1,13 (s, 24H,  $\text{COCH}_3$ ), -2,88 (b, 2H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$ : 170,5-168,7 (8C, C=O), 141,1 (2C, C-1 Ph), 137,8 (1C, C-2''), 134,3, 134,2, 134,1, 134,0 (4C, *o*-Ph), 133,6 (1C, C-1'), 132,9-128,9, 128,1 (8C, C- $\beta$ , C- $\beta'$ pirrol), 128,2 (2C, *p*-Ph), 127,0 (4C, *m*-Ph), 120,6, 120,2 (2C, C-*meso*), 116,9, 109,1 (2C, C-*meso* açúcar), 74,7 (1C, C-1'), 73,3 (1C, C-2'), 73,0 (1C, C-3''), 71,5 (1C, C-4''), 68,1 (1C, C-3'), 67,8 (1C, C-4'), 61,9 (1C, C-5''), 60,9 (1C, C-5'), 20,9, 20,8, 20,7, 20,5, 20,3, 19,5 (8C,  $\text{COCH}_3$ ). Rotação óptica:  $[\alpha] +25,8$  (c 1,0,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 419. HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{58}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_{16}\text{H}^+$  1065,3764; encontrado experimentalmente: 1065,3723. De acordo com os procedimentos descritos na Seção 3.3.3 e 3.3.4 os rendimentos alcançados foram de 4 % nas duas condições testadas.

3.3.6 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'*R*)-1',2',3',4',5'-penta-*O*-acetil- D-arabinitol)]porfirina (**35a**) 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''*E*)-1''-enil-3'',4'',5''-tri-*O*-acetil-D-arabinitol]-20-[1'-C-(1'*R*)-1',2',3',4',5'-penta-*O*-acetil-arabinitol]porfirina (**35b**)



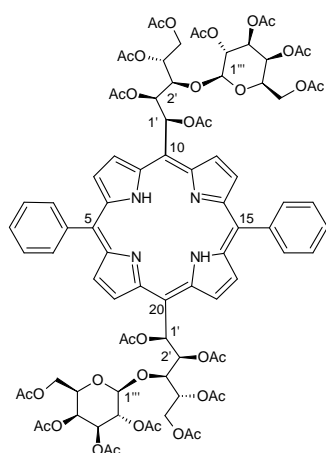
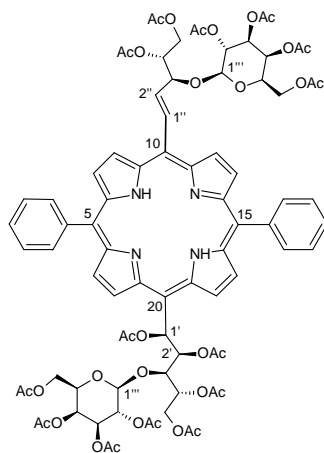
As glicoporfirinas **35a** e **35b** foram sintetizadas a partir do composto **29** de acordo com os procedimentos descritos (Seção 3.3.3 e 3.3.4, páginas 91 e 92) na preparação dos compostos **32** e **33** a partir do **24**. Composto **35a** RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO) (ppm): 10,00 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,93 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,71 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,64 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 8,96 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,94 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,89 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,86 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,33- 8,12 (m, 4H, o-Ph), 8,16 (d,  $J_{1',2'} = 10,1$  Hz, 2H, H-1'), 7,90-7,79 (m, 6H, m e p-Ph), 6,68, 6,63 (d, 2H, H-2'), 6,26 (dd, 2H, H-3'), 5,30- 5,21 (m, 2H, H-4'), 4,43-4,36 (m, 2H, H-5'a), 4,32-4,24 (m, 2H, H-5'b), 2,42, 2,41, 2,18, 2,17, 2,08, 2,07, 1,89, 1,88, 0,76, 0,59 (30H,  $\text{COCH}_3$ ), -3,14 (2H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$ : 170,1, 170,1, 170,0, 170,0, 169,6, 169,6, 169,3, 169,3, 167,7, 167,5 (10C, C=O), 141,5 (2C, C-1 Ph), 133,4, 132,6, 132,3, 131,5 (4C, C- $\beta'$ pirrol), 129,8, 129,4, 129,0, 128,6 (4C, C- $\beta$  pirrol), 134,4, 134,2, 134,1, 134,0 (4C, o-Ph), 128,2 (2C, *p*-Ph), 128,2 (4C, *m*-Ph), 120,1 (2C, C-*meso*), 112,3, 112,2 (2C, C-*meso* açúcar), 73,8, 73,7 (2C, C-2'), 72,1 (2C, C-1'), 68,1 (2C, C-4'), 67,9 (2C, C-3'), 61,9 (2C, C-5'), 20,8, 20,7, 20,5, 18,9, 18,7 (10C,  $\text{COCH}_3$ ). Rotação óptica:  $[\alpha] +31,7$  (c 1,0,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 416. HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para



$C_{62}H_{62}N_4O_{20}Na^+$  1205,3849; encontrado experimentalmente: 1205,3808. De acordo com os procedimentos descritos na Seção 3.3.3 e 3.3.4 os rendimentos alcançados foram de 25% e 12% respectivamente.

Composto **35b** RMN de  $^1H$  (DMSO) (ppm): 9,93 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,64 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,55 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,50 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,28 (d,  $J_{1'',2''}=15,9$  Hz, H-1''), 8,93-8,88 (b, 2H, H- $\beta'$  pirrol), 8,86 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,79 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,23, 8,20 (d, 4H, *o*-Ph), 8,16 (d,  $J_{1',2'}=10,1$  Hz, 1H, H-1'), 7,92-7,82 (m, 6H, *m* e *p*-Ph), 6,65 (dd,  $J_{2',3'}=1,7$  Hz, 1H, H-2'), 6,54 (dd,  $J_{2'',3''}=6,9$  Hz, 1H, H-2''), 6,24 (dd,  $J_{3',4'}=8,4$  Hz, 1H, H-3'), 6,18-6,15 (m, 1H, H-3''), 5,64 (m, 1H, H-4''), 5,24 (m, 1H, H-4'), 4,69 (dd,  $J_{4'',5''a}=3,5$  Hz e  $J_{5''a5''b}=12,2$  Hz, 1H, H-5''a), 4,44 (dd,  $J_{4'',5''b}=7,2$  Hz, 1H, H-5''b), 4,39 (dd,  $J_{4',5'a}=2,7$  e  $J_{5'a5'b}=12,4$  Hz, 1H, H-5'a), 4,26 (dd,  $J_{4',5'b}=5,8$  Hz, 1H, H-5'b), 2,40, 2,29, 2,17, 2,16, 2,06, 2,04, 1,88, 0,64 (s, 24H,  $COCH_3$ ), -2,92 (b, 2H, NH). RMN de  $^{13}C$ : 170,4-167,5 (8C, C=O), 141,3 (2C, C-1Ph), 137,5 (1C, C-2''), 134,3 (4C, *o*-Ph), 133,6 (1C, C-1'), 132,8-128,7 (8C, C- $\beta$ , C- $\beta'$ pirrol), 128,2 (2C, *p*-Ph), 126,9, 126,9, 127,0, 127,0 (4C, *m*-Ph), 120,1 (2C, C-*meso*), 116,5, 111,0 (2C, C-*meso* açúcar), 73,7 (1C, C-2'), 73,0 (1C, C-3''), 72,1 (1C, C-1'), 71,5 (1C, C-4''), 68,2 (1C, C-4'), 67,9 (1C, C-3'), 61,9 (2C, C-5', C-5''), 20,9, 20,8, 20,7, 20,6, 20,5, 18,8 (8C,  $COCH_3$ ). Rotação óptica:  $[\alpha] +24,4$  (c 1,0,  $CH_2Cl_2$ ). UV-vis ( $CH_2Cl_2$ )  $\lambda_{max}$  (nm): 419. HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $C_{58}H_{56}N_4O_{16}H^+$  1065,3764; encontrado experimentalmente: 1065,3734. De acordo com os procedimentos descritos na Seção 3.3.3 e 3.3.4 os rendimentos alcançados foram de 3% e 2% respectivamente.

3.3.7 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',5'-tetra-O-acetil-3'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil-1'''-O-β-D-galactopiranosil)-D-xilitol)]porfirina (**36a**) e 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''E)-1''-enil-3''-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil-1'''-O-β-D-galactopiranosil)-5'',6''-di-O-acetil-D-xilitol]-20-[1'-C-(1'S)-1',2',3',5'-tetra-O-acetil-3'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil-1'''-O-β-D-galactopiranosil)-D-xilitol]porfirina (**36b**)

**36a****e****36b**

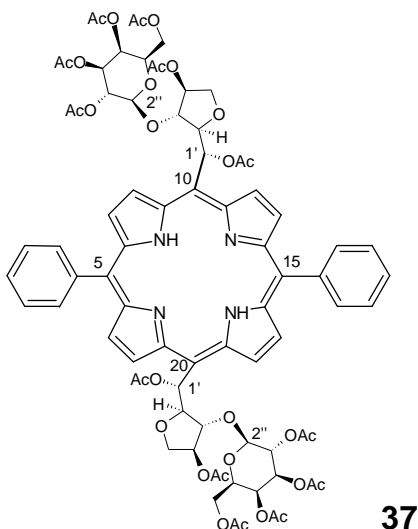
As glicoporfirinas **36a** e **36b** foram sintetizadas a partir do composto **30** de acordo com os procedimentos descritos (Seção 3.3.3 e 3.3.4, páginas 91 e 92) na preparação dos compostos **32** e **33** a partir do **24**. Procedeu-se a purificação dos produtos em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/clorofórmio (1:1 v/v). A primeira fração coletada corresponde ao composto **32b**. A fração seguinte correspondeu ao composto **36b**.

Composto **36a** RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO) (ppm): 9,96 (d, 1H, H-β pirrol), 9,92 (d, 1H, H-β pirrol), 9,89 (d, 1H, H-β pirrol), 9,86 (d, 1H, H-β pirrol), 8,88, 8,83 (t, 4H, H-β'pirrol), 8,59 (d, 1H, H-1'), 8,55 (d, 1H, H-1'), 8,25, 8,20 (d, 4H, *o*-Ph), 7,94-7,79 (m, 6H, *m* e *p*-Ph), 6,36 (t, 1H, H-2'), 6,32 (t, 1H, H-2'), 5,50-5,40 (m, 2H, H-5'''), 5,32-5,18 (m, 6H, H-2''', H-3''', H-4'''), 5,07, 5,05 (d, 2H, H-1'''), 4,47-4,34 (m, 4H, H-3', H-6'''a), 4,27-4,18 (m, 2H, H-4'), 4,18-4,09 (m, 2H, H-6'''b), 3,89-3,80 (m, 2H, H-5'a), 3,71-3,63 (m, 2H, H-5'b), 2,27, 2,25, 2,14, 2,13, 2,05, 2,05, 1,97, 1,97, 1,92, 1,89, 1,80, 1,75, 1,72, 1,69, 1,40, 1,30 (s, 48H,  $\text{COCH}_3$ ), -2,97 (b, 2H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$ :

170,0, 169,9, 169,8, 169,8, 169,8, 169,7, 169,5, 169,5, 169,5, 169,5, 169,3, 169,3, 169,3, 169,2, 169,1, 169,0 (16C, C=O), 141,8 (2C, C-1Ph), 134,0 (4C, *o*-Ph), 133,3-128,7 (8C, C- $\beta$ , C- $\beta'$ pirrol), 128,3 (2C, *p*-Ph), 126,8 (4C, *m*-Ph), 120,2, 119,8 (2C, C-*meso*), 113,4 (2C, C-*meso* açúcar), 99,9 (1C, C-1'''), 75,9 (1C, C-3'), 74,5 (1C, C-2'), 74,3 (1C, C-1'), 70,2 (2C, C-3''', C-5'''), 70,0 (1C, C-4'), 69,0 (1C, C-2'''), 67,3 (1C, C-4'''), 61,7 (1C, C-6'''), 60,9 (1C, C-5'), 20,9, 20,5, 20,4, 20,3, 20,2, 20,1, 19,7, 19,6 (16C, COCH<sub>3</sub>). Rotação óptica:  $[\alpha]$  -22,90 (*c* 1,0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), UV-vis (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 416. HRMS (ESI): *m/z* calculado para C<sub>86</sub>H<sub>94</sub>N<sub>4</sub>O<sub>36</sub>H<sup>+</sup> 1759,5720; encontrado experimentalmente: 1759,5793. De acordo com os procedimentos descritos na Seção 3.3.3 e 3.3.4 os rendimentos alcançados foram de 8% e 4% respectivamente.

Composto **36b** RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) (ppm): 9,92 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,85 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,60 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,57 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,25 (d, 1H,  $J_{1'',2''}=15,5$  Hz, H-1''), 8,88-8,84 (b, 2H, H- $\beta$  pirrol), 8,81 ((d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,76 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,56 (d, 1H, H-1'), 8,25-8,17 (b, 4H, *o*-Ph), 7,93-7,79 (b, 6H, *m* e *p*-Ph), 6,52 (d, 1H, H-2''), 6,41-6,37 (b, 1H, H-2'), 5,50-5,40 (H-5'''), 5,40-5,23 (H-2''', H-3''', H-4'''), 5,12 (H-3''), 5,09-5,03 (H-1'''), 4,86 (H-4''), 4,38 (H-6'''a), 4,36 (H-3'), 4,25-3,89 (H-6'''b, H-5''a, H-5''b), 4,22 (H-4'), 3,81 (H-5'a), 3,62 (H-5'b), 2,26-1,20 (b, 42H, COCH<sub>3</sub>), -2,85 (b, 2H, NH). Rotação óptica:  $[\alpha]$  +368,60 (*c* 0,5, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), UV-vis (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 420. HRMS (ESI): *m/z* calculado para C<sub>82</sub>H<sub>88</sub>N<sub>4</sub>O<sub>32</sub>H<sup>+</sup> 1641,5454; encontrado experimentalmente: 1641,5371. De acordo com os procedimentos descritos na Seção 3.3.3 e 3.3.4 os rendimentos alcançados foram de <1% e 3% respectivamente.

### 3.3.8 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'R)-1',4'-di-O-acetil-2',5'-anidro-3'-(2'',3'',4'',6'')-tetra-O-acetil-1''-O-β-D-galactopiranosil)-D-lixitol)]porfirina (**37**)

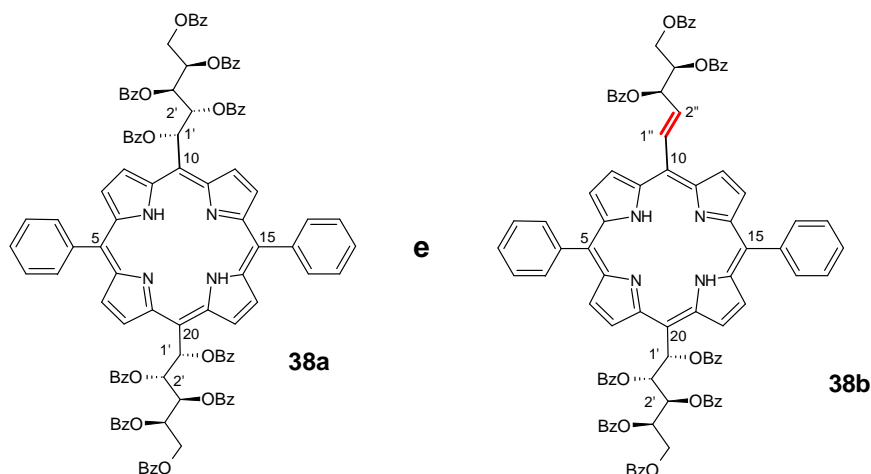


A glicoporfirina **37** foi sintetizada a partir do composto **31** de acordo com os procedimentos descritos (Seção 3.3.3 e 3.3.4, páginas 91 e 92) na preparação dos compostos **32** e **33** a partir do **24**. O composto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente clorofórmio/hexano/metanol (2:2:0,5 v/v). De acordo com os procedimentos descritos na Seção 3.3.3 e 3.3.4 os rendimentos alcançados foram de 8% e 6% respectivamente.

RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 70 °C) (ppm): 9,79 (d, 4H, H-β pirrol), 8,85 (d, 4H, H-β' pirrol), 8,50 (d,  $J_{1',2'} = 6,81$  Hz, 2H, H-1'), 8,20 (d, 4H, *o*-Ph), 7,91-7,79 (m, 6H, *m* e *p*-Ph), 5,26 (dd,  $J_{2',3'} = 3,10$  Hz, 2H, H-2'), 5,02-4,96 (m, 2H, H-4'), 4,71-4,41 (m, 8H, H-2'', H-3'', H-4'', H-5''), 4,26-4,12 (m, 10H, H-1'', H-6''a, H-6''b, H-3', H-5'a), 4,08 (dd,  $J = 4,81$  e  $J = 10,9$  Hz, 2H, H-5'b), 2,24, 2,23, 1,76, 1,71, 1,69, 1,25 (s, 36H,  $\text{COCH}_3$ ), -2,87 (b, 2H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$ : 169,6, 169,4, 168,8, 168,5, 168,2, 168,2 (12C, C=O), 141,4 (2C, C-1Ph), 133,6 (4C, *o*-Ph), 131,6 (4C-β'pirrol), 128,9 (4C-β pirrol), 127,7 (2C, *p*-Ph), 126,3 (4C, *m*-Ph), 119,5 (2C, C-meso), 112,8 (2C, C-meso açúcar), 98,9 (2C, C-1''), 87,7 (2C, C-2'), 83,6 (2C, C-3'), 77,7 (2C, C-4'), 74,5 (2C, C-1'), 71,2 (2C, C-5'), 69,3, 68,8, 68,0, 66,0 (8C, C-2'', C-3'', C-4'', C-5''), 58,8 (2C, C-6''), 20,5, 20,4, 19,5, 19,5, 19,2, 18,9 (12C,  $\text{COCH}_3$ ). Rotação óptica:  $[\alpha] +136,80$  (c 0,5,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), UV-

vis (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 416. HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para C<sub>78</sub>H<sub>82</sub>N<sub>4</sub>O<sub>30</sub>Na<sup>+</sup> 1577,4906; encontrado experimentalmente: 1577,4844.

3.3.9 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-benzoil-D-lixitol)]porfirina (**38a**) e síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''E)-1''-enil-3'',4'',5''-tri-O-benzoil-D-lixitol]-20-[1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-benzoil-D-lixitol]porfirina (**38b**)



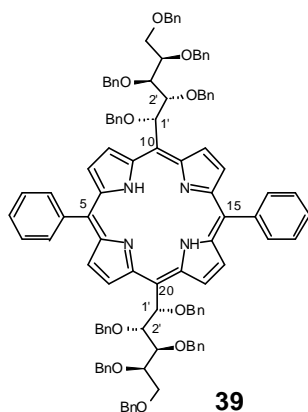
As glicoporfirinas **38a** e **38b** foram sintetizadas a partir do composto **25** de acordo com o procedimento descrito (Seção 3.3.4, páginas 92) na preparação do composto **33** a partir de **24**. Os produtos foram purificados em coluna de sílica utilizando como eluente CHCl<sub>3</sub>/hexano (2,5:0,5 v/v). Os compostos foram recromatografados em CCD preparativas utilizando como fase móvel CHCl<sub>3</sub>/MeOH (10:0,1 v/v). O rendimento apresentado para a mistura dos compostos **38a** e **38a'** foi de 2%. Composto **38a** RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) (ppm): 10,12 (4H, H-β pirrol), 9,03 (2H, H-1'), 8,89 (2H, H-β' pirrol), 8,71 (2H, H-β' pirrol), 7,38 (2H, H-2'), 6,25 (2H, H-3'), 5,98 (2H, H-4'), 4,25 (2H, H-5'a), 3,96 (2H, H-5'b), -3,92 (2H, NH). RMN de <sup>13</sup>C: 76,9 (2C, C-1'), 73,8 (2C, C-2'), 70,4 (2C, C-3'), 69,0 (2C, C-4'), 62,5 (2C, C-5'). Composto **38a'** RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) (ppm): 10,02 (4H, H-β pirrol), 9,07 (2H, H-1'), 8,85 (2H, H-β' pirrol), 8,62 (2H, H-β' pirrol), 7,37 (2H, H-2'), 6,47 (2H, H-3'), 6,25 (2H, H-4'), 4,56 (2H, H-5'a), 4,25 (2H, H-5'b), -3,60 (2H, NH). RMN de <sup>13</sup>C: 75,9 (2C, C-1'), 73,8 (2C, C-2'), 70,4 (2C, C-3'), 69,0 (2C, C-4'), 63,0 (2C, C-5'). Rotação óptica [α] + 25,5 (c 1,0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), UV-vis (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 422. HRMS (ESI):  $m/z$

calculado para  $C_{112}H_{82}N_4O_{20}Na^+$  1825,5414; encontrado experimentalmente: 1825,5478.

Composto **38b** RMN de  $^1H$  (DMSO) (ppm): 10,15 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 10,10 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,44-9,39 (b, 2H, H- $\beta$  pirrol), 9,38 (d, 1H, H-1''), 9,00 (d, 1H, H-1'), 8,89 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,77 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,60 (b, 2H, H- $\beta'$  pirrol), 7,34 (H-2'), 6,77 (2H, H-2'', H-3''), 6,34 (H-4''), 6,13 (H-3'), 5,92 (H-4'), 5,08 (H-5''a), 5,00 (H-5''b), 4,18 (H-5'a), 3,85 (H-5'b). UV-vis ( $CH_2Cl_2$ )  $\lambda_{max}$  (nm): 423. Rotação óptica  $[\alpha]$  +99,8 (c 1,0,  $CH_2Cl_2$ )

HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $C_{98}H_{72}N_4O_{16}Na^+$  1583,4835; encontrado experimentalmente: 1583,4765, 1% de rendimento.

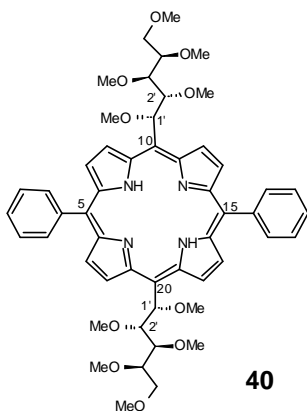
### 3.3.10 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-benzil-D-lixitol)]porfirina (**39**)



A glicoporfirina **39** foi sintetizada a partir do composto **26** de acordo com o procedimento descrito (Seção 3.3.4, páginas 92) na preparação do composto **33** a partir do **24**. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente  $CHCl_3$ /hexano (2:1 v/v). O composto foi recromatografado em CCD preparativas utilizando como fase móvel  $CHCl_3$ /hexano (3:1 v/v) (3% de rendimento). RMN de  $^1H$  (DMSO) (ppm): 10,25 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 10,19 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,53 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,51 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 8,69 (b, 2H, H- $\beta'$  pirrol), 8,61 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,56 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,25- 7,68 (m, 10H, o, *m* e *p* -Ph), 7,49 (b, 2H, H-1'), 7,40- 6,55 (m, 50H,  $CH_2Ph$ ), 4,91-4,70 (m, 6H, H-2',  $CH_2Ph$ ), 4,42-4,35 (4H,  $CH_2Ph$ ), 4,27- 3,94 (m, 12H, H-3',  $CH_2Ph$ ), 3,62- 3,07 (m, 8H, H-4', H-5'a, H-5'b,  $CH_2Ph$ ), -2,70 (b, 2H,

NH). RMN de  $^{13}\text{C}$ : 141,8 (2C, C-1Ph), 138,4-137,4(10C, C-1Ph), 134,0 (4C, *o*-Ph), 133,4- 129,9 (6C, C- $\beta$  pirrol, C- $\beta'$  pirrol), 128,5-126,4 (58C, C- $\beta$  pirrol, *o*, *m* e *p*- Ph,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 119,3 (2C, C-*meso*), 115,1, 114,9 (2C, C-*meso* açúcar), 85,6 (2C, C-2'), 82,2, 82,1 (2C, C-1'), 79,5, 79,2 (2C, C-3'), 77,2, 77,1 (2C, C-4'), 74,2, 74,1, 73,8, 73,7, 72,1, 72,0, 71,3, 71,3, 71,2, 71,1 (10C,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 69,1, 69,0 (2C, C-5'). Rotação óptica:  $[\alpha] + 26,4$  (c 1,0,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 420. HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{112}\text{H}_{102}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{Na}^+$  1685,7488; encontrado experimentalmente: 1685,7491.

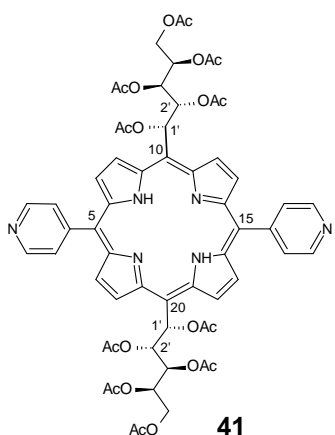
### 3.3.11 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-metil- D-lixitol)]porfirina (**40**)



A glicoporfirina **40** foi sintetizada a partir do composto **25** de acordo com o procedimento descrito (Seção 3.3.4, páginas 92) na preparação dos compostos **33** a partir do **24**. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente hexano/acetato de etila (3:1 v/v). O composto foi recromatografado em CCD preparativas utilizando como fase móvel hexano/acetato de etila/MeOH (8:2:0,1 v/v) (8% de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 10,38 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 10,31 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,55 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,52 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 8,90 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,88 (d, 1H, H- $\beta'$  pirrol), 8,83 (d, 2H, H- $\beta'$  pirrol), 8,34 (d, 1H, *o*-Ph), 8,25 (d, 1H, *o*-Ph), 8,20 (d, 1H, *o*-Ph), 8,10 (d, 1H, *o*-Ph), 7,86-7,71 (m, 6H, *m* e *p*-Ph), 7,22 (b, 2H, H-1'), 4,47 (dd, 1H, H-2'), 4,36 (dd, 1H, H-2'), 4,18 (dd, 2H, H-3'), 3,93-3,73 (m, 12H, H-4', H-5'a, H-5'b,  $\text{OCH}_3$ ), 3,61, 3,51, 3,48, 3,39, 3,34, 2,37, 2,31 (s, 24H,  $\text{OCH}_3$ ), -2,57 (b, 2H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$ : 134,7 (4C, *o*-Ph), 134,0-129,1 (8C, C- $\beta$ , C-

$\beta$ 'pirrol), 128,1 (2C, *p*-Ph), 126,8 (4C, *m*-Ph), 115,7 (4C, *C-meso*), 87,1, 86,7 (2C, C-2'), 84,1, 83,9 (2C, C-1'), 81,4 (2C, C-3'), 78,8 (2C, C-4'), 72,1 (2C, C-5'), 61,6, 61,6, 61,3, 61,2, 59,4, 59,4, 58,5, 58,5, 57,7, 57,7 (10C, OCH<sub>3</sub>). Rotação óptica:  $[\alpha] + 23,3$  (*c* 1,0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), UV-vis (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\lambda_{\max}$  (nm): 418. HRMS (ESI): *m/z* calculado para C<sub>52</sub>H<sub>62</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>Na<sup>+</sup> 925,4358; encontrado experimentalmente: 925,4376.

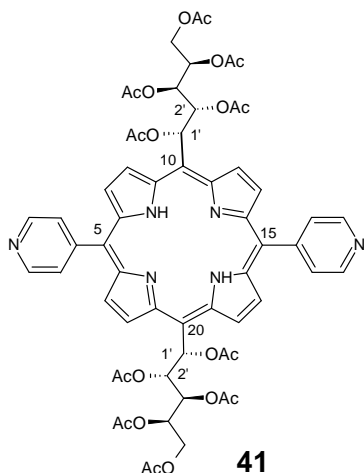
### 3.3.12 Otimização da síntese da 5,15-[bis(4-piridil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (**41**)



Em um balão de fundo redondo foi adicionado solvente (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ou CH<sub>3</sub>CN), 0,5065 g de dipirrometano **24** (1mmol), 95  $\mu$ L de 4-piridina carboxialdeído (1mmol) e TFA. A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética nas condições de condensação dadas na Tabela 5 (página 178). Posteriormente, o sobrenadante foi decantado e THF (50 mL) foi adicionado ao resíduo, seguido de trietilamina. Ambas as frações orgânicas foram combinadas e uma solução de DDQ (0,340g/ 1,5 mmol) em THF (1mL) foi adicionada (condições de oxidação de acordo com Tabela 5). Após o tempo de oxidação estabelecido na Tabela, a reação foi interrompida evaporando-se o meio de reação sob pressão reduzida. Em seguida, procedeu-se a purificação do produto em CCD preparativa utilizando como eluente acetato de etila/hexano/MeOH/tolueno (3:2:1:1 v/v).

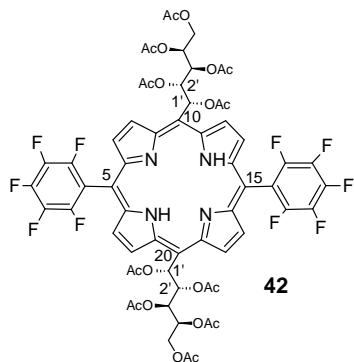


### 3.3.13 Síntese da 5,15-[bis(4-piridil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (**41**)



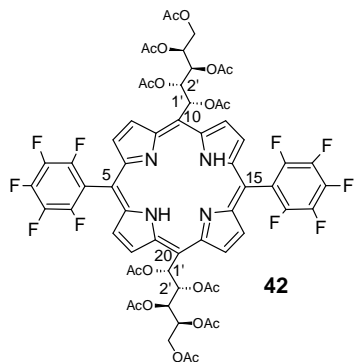
Em um balão de fundo redondo foram adicionados 50 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0,2533 g de dipirrometano **24** (0,5 mmol), 47  $\mu\text{L}$  de 4-piridina carboxialdeído (0,5 mmol) e 116  $\mu\text{L}$  (1,5 mmol) de TFA. A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética por 30 min. Posteriormente, o sobrenadante foi decantado e THF (25 mL) foi adicionado ao resíduo, seguido de trietilamina (208  $\mu\text{L}$ / 1,5 mmol). Ambas as frações orgânicas foram combinadas e uma solução de DDQ (0,170 g/ 0,75 mmol) em THF (0,5 mL) foi adicionada ao meio reacional. Após 1 h, a reação foi interrompida evaporando-se o meio reacional sob pressão reduzida. Em seguida, procedeu-se a purificação do produto em CCD preparativa utilizando como eluente acetato de etila/hexano/MeOH/tolueno (3:2:1:1 v/v) (3,5 mg, 1,2 % de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  (acetona- $\text{d}_6$ ) (ppm): 9,96 (1H), 9,91 (1H), 9,70 (1H), 9,66 (1H), 8,96 (4H), 8,88 (2H), 8,81 (2H), 8,56 (2H), 8,26-8,03 (4H), 6,24 (1H) 6,14 (1H), 5,82 (1H), 5,74 (1H), 5,41-5,35 (2H), 4,11 (2H), 3,78-3,63 (2H), 2,24-1,11 (30H), -3,07 (2H).

### 3.3.14 Otimização de síntese da 5,15-[bis(pentafluorfenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (**42**)



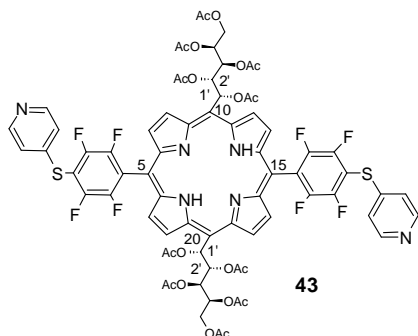
Em um balão de fundo redondo foi adicionado solvente ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ou  $\text{CHCl}_3$ ), dipirrometano **24**, 2,3,4,5,6-pentafluorobenzaldeído e ácido (TFA ou  $\text{BF}_3$ ). A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética nas condições de condensação dadas na Tabela 6 (página 183). Posteriormente, foi adicionado trietilamina e o agente oxidante ( $\text{SeO}_2$  ou DDQ) (quantidade e temperatura de oxidação de acordo com Tabela 6). Após o tempo de oxidação estabelecido na Tabela 6, a reação foi interrompida evaporando-se o meio de reação sob pressão reduzida. Em seguida, procedeu-se a purificação do produto em coluna de alumina utilizando como eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , seguindo-se de um aumento da polaridade da fase móvel por gradiente com o uso sequencial de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acetato de etila (10: 1 v/v). O produto foi repurificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano/  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:2:2 v/v). A reação conduzida com  $\text{SeO}_2$  como oxidante foi interrompida filtrando-se o meio reacional em Celite, seguindo-se de evaporação do solvente e purificação do produto em coluna de sílica.

### 3.3.15 Síntese da 5,15-[bis(pentafluorfenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (**42**)



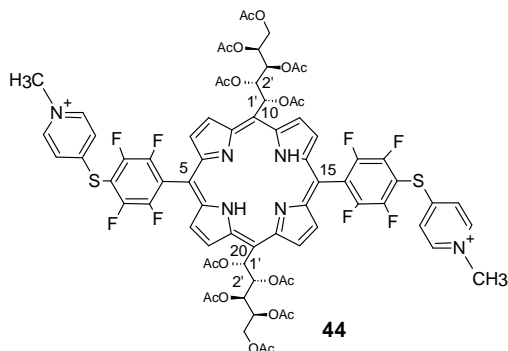
Em um balão de fundo redondo foram adicionados 10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0,5065 g de dipirrometano **24** (1mmol), 0,1960g de 2,3,4,5,6-pentafluorobenzaldeído (1mmol) e  $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$  (7 mmol/L; 0,07 mmol). A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética por 30 min. Posteriormente, foram adicionados 10  $\mu\text{L}$  de trietilamina (0,07 mmol) e 0,4767g de DDQ (2,1 mmol). Após 3 h de oxidação, a reação foi interrompida evaporando-se o meio reacional a pressão reduzida. Em seguida, procedeu-se a purificação do produto em coluna de alumina utilizando como eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , seguindo-se de um aumento da polaridade da fase móvel por gradiente com o uso sequencial de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acetato de etila (10: 1 v/v). O produto foi repurificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/hexano/  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:2:2 v/v) (47,7 mg, 7% de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO) (ppm): 9,99 (b, 2H, H- $\beta$  pirrol), 9,95 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,92 (d, 1H, H- $\beta$  pirrol), 9,43-9,34 (m, 4H, H- $\beta$  pirrol), 8,54(b, 2H, H-1'), 6,30 (dd,  $J_{1',2'} = 5,4$  e  $J_{2',3'} = 8,75$  Hz, 1H, H-2'), 6,24 (dd, 1H, H-2'), 5,84 (d, 1H, H-3'), 5,72 (d, 1H, H-3'), 5,46 (b, 2H, H-4'), 4,11(ddd, 2H, H-5'a), 3,77-3,68 (dd, 2H, H-5'b), 2,26, 2,23, 1,81, 1,81, 1,75, 1,70, 1,67, 1,64, 1,00. 0,87 (s, 30H,  $\text{COCH}_3$ ), -3,16 (s, 2H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$ : 133,4-129,4 (8C, C- $\beta$ , C- $\beta'$ pirrol), 73,9, 73,7 (2C, C-1'), 72,7 (2C, C-2'), 69,2, 69,0 (2C, C-3'), 67,8, 67,7 (2C, C-4'), 61,9, 61,8 (2C, C-5'), 20,8, 20,3, 20,0, 19,2, 19,1 (10C,  $\text{COCH}_3$ ). Não foram assinalados C meso, C meso açúcar e C=O (assinalamento  $^{13}\text{C}$  realizado com base no experimento de HSQC). UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 413. HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{62}\text{H}_{53}\text{F}_{10}\text{N}_4\text{O}_{20}^+$  1363,3088; encontrado experimentalmente: 1363,30897.

### 3.3.16 Síntese da 5,15-[bis(2,3,5,6-tetrafluor-4-(4-piridilsulfonil)fenil)-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (**43**)



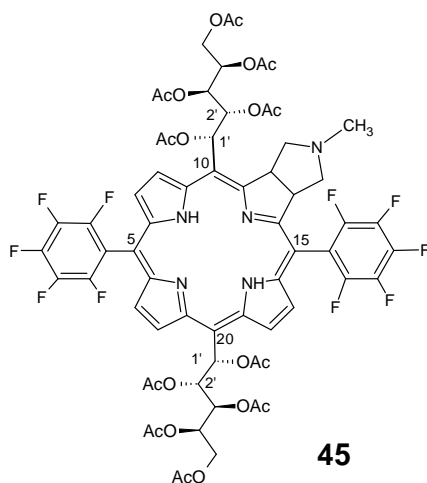
Em um balão de fundo redondo foram adicionados 59,7 mg da porfirina **42** (0,0438 mmol), 3 mL de DMF seco, 19,47 mg de 4-mercaptopiridina (0,175 mmol) e 0,4 mL de dietilamina. A reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 1 h. Evaporou-se o DMF no rotaevaporador. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando-se como eluente MeOH/acetato de etila/hexano/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1:2:2 v/v) (50 mg, 74% rendimento). RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) (ppm): 10,06-9,95 (m, 4H, H-β pirrol), 9,60-9,50 (m, 4H, H-β' pirrol), 8,68-8,64 (m, 4H, *m*-H Py), 8,59-8,53 (m, 2H, H-1'), 7,77-7,73 (m, 4H, *o*-H Py), 6,40-6,27 (m, 2H, H-2'), 5,85 (d, 1H, H-3'), 5,71 (d, 1H, H-3'), 5,52-5,44 (m, 2H, H-4'), 4,15-4,04 (m, 2H, H-5'a), 3,74-3,64 (m, 2H, H-5'b), 2,27, 2,23, 1,82, 1,76, 1,73, 1,60, 0,82, 0,69 (s, 30H, COCH<sub>3</sub>), -3,14 (b, 2H, NH). RMN de <sup>13</sup>C: 170,2-168,6 (10C, C=O), 150,2 (4C, *m*-Py), 133,9-129,6 (8C, C-β, C-β'pirrol), 121,1 (4C, *o*-Py), 74,1, 74,0 (2C, C-1'), 72,8 (2C, C-2'), 69,3, 69,1 (2C, C-3'), 67,8, 67,7 (2C, C-4'), 62,0, 61,8 (2C, C-5'), 20,9, 20,8, 20,5, 20,5, 20,2, 20,2, 20,1, 20,1, 19,1, 19,0 (10C, COCH<sub>3</sub>). Não foram assinalados C *meso* e C *meso* açúcar (assinalamento <sup>13</sup>C realizado com base no experimento de HSQC). HRMS (ESI): *m/z* calculado para C<sub>70</sub>H<sub>62</sub>F<sub>10</sub>N<sub>5</sub>O<sub>20</sub>S<sub>2</sub><sup>2+</sup> 1546,3322 [M+H]<sup>+</sup> ou 773,1661 [M+H]<sup>2+</sup>; encontrado experimentalmente: 773,16587.

### 3.3.17 Síntese do diodeto de 5,15-[bis(2,3,5,6-tetrafluor-4-(*N*-metilpiridínio-4-ilsulfonil)fenil]-10,20-[bis(1'-*C*-(1'*S*)-1',2',3',4',5'-penta-*O*-acetil-D-lixitol)]porfirina (**44**)



Em um tubo selado foram adicionados 20 mg (0,013 mmol) da porfirina **43**, 1 mL de DMF seco e 0,2 mL de CH<sub>3</sub>I (3,2 mmol). A reação foi mantida em agitação por 20 h a 40 °C. Após este tempo, o meio de reação foi resfriado e o produto precipitado em éter etílico. O precipitado foi filtrado e lavado com éter etílico (12,2 mg, 52% de rendimento). RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) (ppm): 10,06 (d, (4H, H-β pirrol), 9,57 (d, 4H, H-β' pirrol), 8,98 (d, 4H, *m*-H Py), 8,57 (d, 2H, H-1'), 8,46 (d, 4H, *o*-H Py), 6,42 (t, 1H, H-2'), 6,37 (t, 1H, H-2'), 5,84 (d, 1H, H-3'), 5,69 (d, 1H, H-3'), 5,53-5,45 (m, 2H, H-4'), 4,36 (s, 6H, CH<sub>3</sub>), 4,09 (dd, 1H, H-5'a), 4,04 (dd, 1H, H-5'a), 3,70-3,58 (m, 2H, H-5'b), 2,26, 2,23, 1,84, 1,81, 1,80, 1,71, 1,57, 0,57, 0,51 (s, 30H, COCH<sub>3</sub>), -3,12 (b, 2H, NH). RMN de <sup>13</sup>C: 170,1-168,4 (10C, C=O), 145,0 (4C, *m*-Py), 133,5-129,2 (8C, C-β, C-β'pirrol), 123,5 (4C, *o*-Py), 74,2, 74,1 (2C, C-1'), 72,8 (2C, C-2'), 69,3, 69,2 (2C, C-3'), 67,8, 67,7 (2C, C-4'), 62,0, 61,8 (2C, C-5'), 47,2 (2C, CH<sub>3</sub>), 20,9, 20,8, 20,4, 20,4, 20,2, 20,2, 20,2, 20,0, 18,8, 18,8 (10C, COCH<sub>3</sub>). Não foram assinalados C *meso* e C *meso* açúcar (assinalamento <sup>13</sup>C realizado com base no experimento de HSQC). HRMS (ESI): *m/z* calculado para C<sub>74</sub>H<sub>66</sub>F<sub>8</sub>N<sub>6</sub>O<sub>20</sub>S<sub>2</sub> 1574,3635 [M-2I]<sup>+</sup> ou 787,1818 [M-2I]<sup>2+</sup>; encontrado experimentalmente: 787,18146.

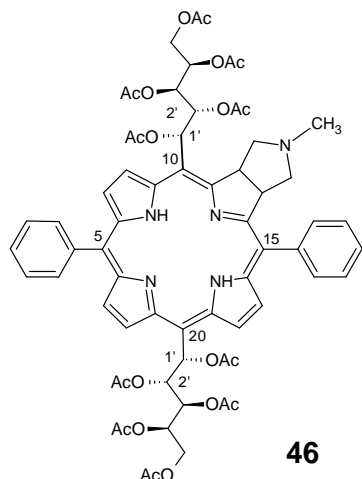
3.3.18 Síntese da 5,15-[bis(2,3,4,5,6-pentafluorfenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]-12, 13-[(c)-(N-metil-pirrolidinil)]clorina (**45**)



Em um balão de fundo redondo foram adicionados 30 mg (0,022 mmol) da porfirina **42**, 4,6 mL de tolueno, 40 mg de *N*-metilglicina (0,449 mmol) e 20 mg de paraformaldeído. A reação foi mantida em agitação por 1,5 h em refluxo sob ambiente de N<sub>2</sub>. Após este tempo, adicionou-se mais 40 mg de *N*-metilglicina e 20 mg de paraformaldeído. Após 1 h, a reação foi interrompida evaporando o tolueno. O produto foi purificado em CCD preparativa utilizando como eluente acetato de etila/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:2 v/v). Os rendimentos dos compostos **45a**, **45b** foram de 22% (6,9 mg), 70% (21,9 mg) respectivamente. Composto **45a**: HRMS (ESI): *m/z* calculado para C<sub>65</sub>H<sub>61</sub>F<sub>10</sub>N<sub>5</sub>O<sub>20</sub> 1421,3739 [M+H]<sup>+</sup> ou 710,6870 [M+H]<sup>2+</sup> encontrado experimentalmente: 710,68655.

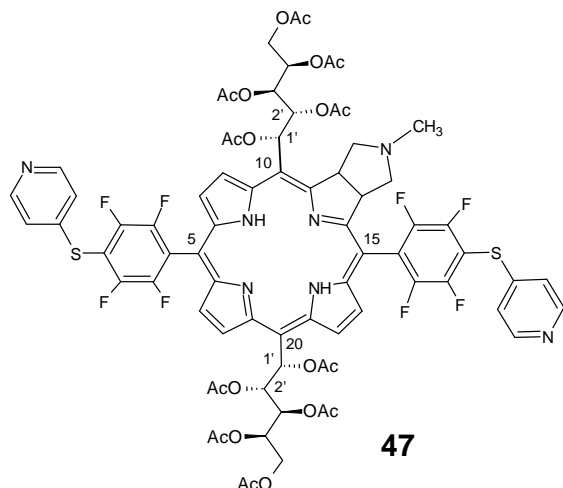
Composto **45b** RMN de <sup>1</sup>H (DMSO, 70 °C) (ppm): 9,76-9,55 (2H), 9,54-9,19 (1H), 9,13 (1H), 8,73 (2H), 8,21 (1H), 7,69 (1H), 6,25- 5,99 (2H), 5,83-5,59 (4H), 5,44-5,35 (1H), 5,34- 5,23 (2H), 4,20- 4,00 (2H), 3,89- 3,75 (1H), 3,75- 3,56 (2H), 2,95-2,86 (2H), 2,37-1,54 (30H), 0,78 (3H), -1,47 (1H), -1,91 (1H). HRMS (ESI): *m/z* calculado para C<sub>65</sub>H<sub>61</sub>F<sub>10</sub>N<sub>5</sub>O<sub>20</sub> 1421,3739 [M+H]<sup>+</sup> ou 710,6870 [M+H]<sup>2+</sup>; encontrado experimentalmente: 710,68657.

3.3.19 Tentativa de síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]-12, 13-[(c)-(N-metil-pirrolidinil)]clorina (**46**)



Em um balão de fundo redondo foram adicionados 15 mg (0,013 mmol) da porfirina **32**, 2,2 mL de o-diclorobenzeno, 44 mg de N-metilglicina (0,049 mmol) e 18 mg de paraformaldeído. A reação foi mantida em agitação em refluxo sob ambiente de N<sub>2</sub>. A cada 5 h foram adicionadas 44 mg de N-metilglicina e 18 mg de paraformaldeído (tempo total de reação= 18 h). A reação foi acompanhada por UV-vis.

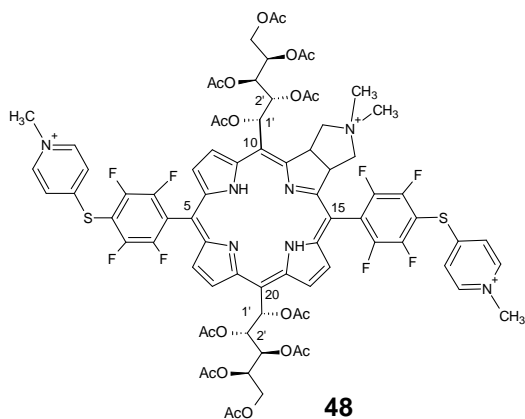
3.3.20 Síntese da 5,15-[bis(2,3,5,6-tetrafluor-4-(4-piridilsulfonil)fenil)-10,20-[bis(1'-C,1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol]-12, 13-[(c)-(N-metil-pirrolidinil)]clorina (**47**)



Em um balão de fundo redondo foram adicionados 28,5 mg da porfirina **45b** (0,02 mmol), 1,4 mL de DMF seco, 8,9 mg de 4-mercaptopiridina (0,08 mmol) e 0,2 mL de dietilamina. A reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 1 h. Evaporou-se o DMF no rotaevaporador. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5:1 v/v) (19,6 mg, 61% rendimento). HRMS (ESI):  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{75}\text{H}_{69}\text{F}_8\text{N}_7\text{O}_{20}\text{S}_2$  1603,3900  $[\text{M}+\text{H}]^+$  ou 801,6950  $[\text{M}+\text{H}]^{2+}$ ; encontrado experimentalmente: 801,69662.

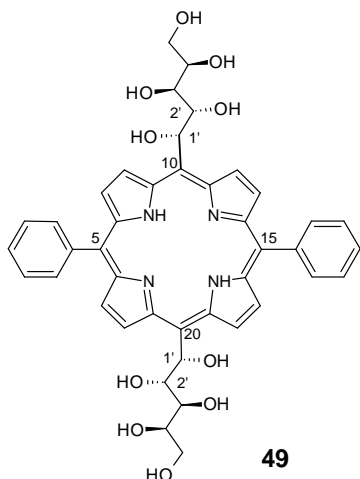


3.3.21 Síntese do triodeto de 5,15-[bis(2,3,5,6-tetrafluor-4-(*N*-metilpiridínio-4-ilsulfonil)fenil]-10,20-[bis(1'-*C*-(1'*S*)-1',2',3',4',5'-penta-*O*-acetil-*D*-lixitol)]-12,13-[(*c*)-(*N,N*-dimetil-pirrolidínio-1-il)]clorina (**48**)



Em um tubo selado foram adicionados 27,4 mg (0,017 mmol) da clorina **47**, 1,4 mL de DMF seco e 0,2 mL de CH<sub>3</sub>I (3,2 mmol). A reação foi mantida em agitação por 20 h a 40 °C. Após este tempo, o meio de reação foi resfriado e o produto precipitado em água. O precipitado foi filtrado e lavado com água (60% de rendimento). HRMS (ESI): *m/z* calculado para C<sub>78</sub>H<sub>76</sub>F<sub>8</sub>IN<sub>7</sub>O<sub>20</sub>S<sub>2</sub> 1773,3493 [M+H]<sup>+</sup> ou 886,6747 [M+H]<sup>2+</sup>; encontrado experimentalmente: 886,67789 [M-2I]<sup>2+</sup>.

### 3.3.22 Condições testadas de desacetilação para a obtenção da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-D-lixitol)]porfirina (**49**)

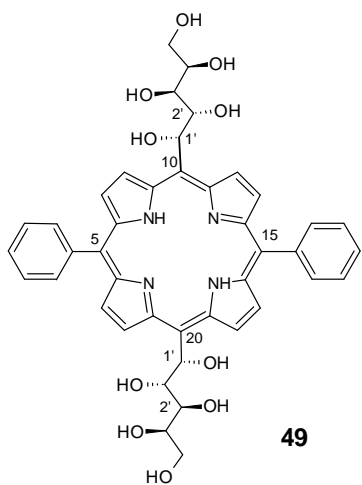


Foram testadas diferentes condições de desacetilação da porfirina **32**. As reações foram acompanhadas por CCD utilizando como fase móvel acetato de etila/ MeOH/H<sub>2</sub>O (10:2:1 v/v).

-Condição 1: Em um balão de fundo redondo foram adicionados 3 mL de MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2:1 v/v), 8 mg de NaOMe (0,15 mmol) e 15 mg da porfirina **32** (0,012 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 1 h.

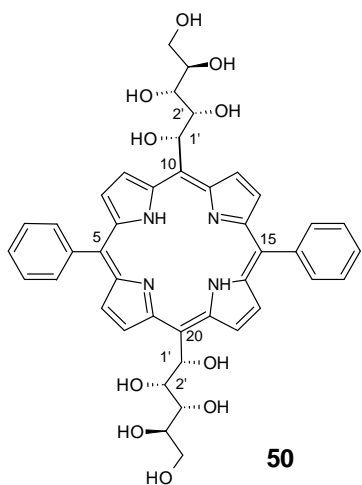
-Condição 2: Em um balão de fundo redondo foram adicionados 10 mg (0,0085 mmol) da porfirina **32**, 1 mL de MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4:1 v/v) e 0,087 mL de dietilamina (0,85 mmol). A reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 2 h.

-Condição 3: Em um balão de fundo redondo foram adicionados 10 mg (0,0085 mmol) da porfirina **32**, 1 mL de MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4:1 v/v) e 0,02 mL de pirrolidina (0,24 mmol). A reação foi mantida sob agitação a 70°C por 1 h.

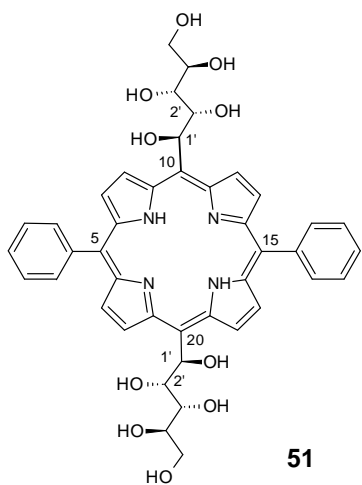
3.3.23 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-D-lixitol)]porfirina (**49**)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 3 mL de MeOH/ CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2:1), 8 mg de NaOMe (0,15 mmol) e 15 mg da porfirina **32** (0,012 mmol). A mistura de reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 60 min. A reação foi neutralizada com uma solução de ácido cítrico concentrado. Em seguida o material foi concentrado e purificado em coluna de fase reversa (Waters Sep-Pak C18 35 cm<sup>3</sup>) utilizando com eluente acetonitrila/H<sub>2</sub>O (1:2 v/v) (10,6 mg, 11% de rendimento). RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) (ppm): 10,28-9,77 (4H, H-β pirrol), 8,69 (d, J= 4,67Hz, 4H, H-β'pirrol), 8,22-8,11 (b, 4H, *o*-Ph), 7,90-7,80 (m, 6H, *m* e *p*-Ph), 7,71-7,67 (b, 2H, H-1'), 6,63 (d, J=4,46 Hz, 2H, OH), 4,97 (d, J= 7,95 Hz, 2H, OH), 4,72 (d, J= 7,92 Hz, 2H, OH), 4,55 (t, J=4,63 Hz, 2H, OH), 4,39 (t, J=8,42 Hz, 2H, H-2'), 4,27 (d, J= 6,20 Hz, 2H, OH), 4,14 (t, J=8,41 HZ, 2H, H-3'), 3,99-3,94 (m, 2H, H-4'), 3,61-3,54 (m, 2H, H-5'a), 3,54-3,48 (m, 2H, H-5'b), -2,76 (b, 2H, NH). RMN de <sup>13</sup>C: 142,6 (2C, C-1Ph), 134,0 (4C, *o*-Ph), 127,9 (2C, *p*-Ph), 126,7 (4C, *m*-Ph), 122,6 (4C, C-*meso*, C-*meso* açúcar), 78,2 (2C, C-2'), 73,4 (2C, C-1'), 71,0 (2C, C-3'), 70,3 (2C, C-4'), 63,3 (2C, C-5'). Não foram assinalados os C-β pirrólicos.

### 3.3.24 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)- D-xilitol)]porfirina (**50**)

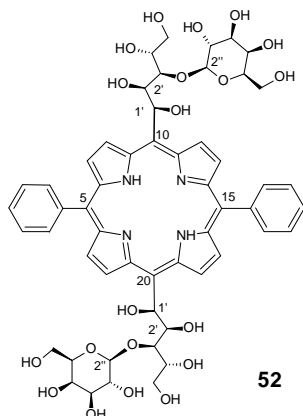


Em um balão de fundo redondo foram adicionados 50 mg (0,042 mmol) da porfirina **34a**, 2,5 mL de THF, 2,5 mL de éter etílico e 5 mL de MeOH. Adicionou-se 0,26 mL de NaOMe 0,5 mol/L nos tempos 0, 5, 10, 15 e 30 min (volume total 1,30 mL de NaOMe, 0,63 mmol). A mistura de reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 60 min. A reação foi neutralizada com resina catiônica. Concentrou-se o meio racional. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/ MeOH/ H<sub>2</sub>O (13:2:1 v/v). Uma segunda recromatografia foi realizada utilizando como eluente acetato de etila/THF (1:1) (3,2 mg, 10% de rendimento). RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) (ppm): 9,93 (b, 4H, H-β pirrol), 8,75 (d, J= 4,74 Hz, 4H, H-β'pirrol), 8,20 (b, 4H, *o*-Ph), 7,91-7,78 (m, 6H, *m* e *p*-Ph), 7,23 (b, 2H, H-1'), 6,75 (d, 2H, OH), 5,38 (d, 2H, OH), 5,21 (b, 2H, H-2'), 4,35 (d, 2H, OH), 3,96 (d, 2H, OH), 3,78 (t, 2H, OH), 3,45 (b, 2H, H-3'), 3,22 (b, 2H, H-5'a), 2,88 (m, 2H, H-5'b), 2,50 (b, 2H, H-4'), -2,92 (b, 2H, NH). RMN de <sup>13</sup>C: 142,2 (2C, C-1Ph), 133,9 (4C, *o*-Ph), 127,9 (2C, *p*-Ph), 126,7 (4C, *m*-Ph), 119,8, 118,5 (4C, C-*meso*, C-*meso* açúcar), 76,4 (2C, C-2'), 75,0 (2C, C-1'), 71,0 (2C, C-3'), 70,4 (2C, C-4'), 63,1 (2C, C-5'). Não foram assinalados os C-β pirrólicos.

3.3.25 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'*R*)-D-arabinitol)]porfirina (**51**)

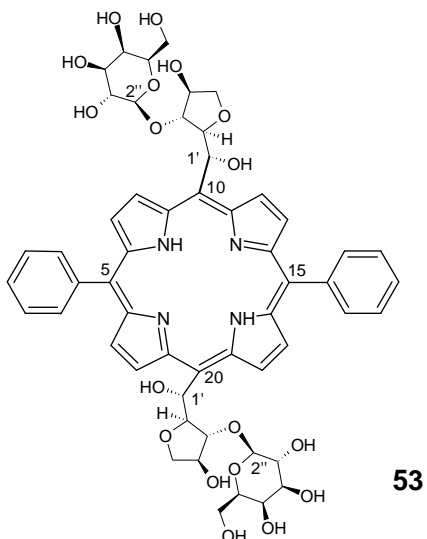
Em um balão de fundo redondo foram adicionados 50 mg (0,042 mmol) da porfirina **35a**, 2,5 mL de THF, 2,5 mL de éter etílico e 5 mL de MeOH. Adicionou-se 0,26 mL de NaOMe 0,5 mol/L nos tempos 0, 5, 10, 15 e 30 min (volume total 1,30 mL de NaOMe, 0,63 mmol). A mistura de reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 90 min. A reação foi neutralizada com resina catiônica. Concentrou-se o meio racional. O produto foi purificado em coluna de sílica utilizando como eluente acetato de etila/ MeOH/ H<sub>2</sub>O (13:2:1 v/v) (4,2 mg, 13% de rendimento). RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) (ppm): 10,07 (b, 2H, H-β pirrol), 9,70 (b, 2H, H-β pirrol), 8,73 (d, 4H, H-β'pirrol), 8,18 (d, 4H, *o*-Ph), 7,91-7,79 (m, 6H, *m* e *p*-Ph), 7,16 (b, 2H, H-1'), 6,90 (b, 2H, OH), 5,05 (b, 2H, H-2'), 4,85 (b, 2H, OH), 4,63 (b, 2H, OH), 4,46 (b, 4H, H-4', OH), 4,07-3,99 (m, 2H, OH), 3,86-3,77 (m, 2H, H-5'a), 3,68-3,57 (m, 4H, H-3', H-5'b), -2,85 (b, 2H, NH). RMN de <sup>13</sup>C: 142,4 (2C, C-1Ph), 134,0 (4C, *o*-Ph), 127,9 (2C, *p*-Ph), 126,7 (4C, *m*-Ph), 122,4 (4C, C-*meso*, C-*meso* açúcar), 77,1 (2C, C-2'), 73,3 (2C, C-1'), 71,6 (2C, C-3'), 70,4 (2C, C-4'), 64,1 (2C, C-5'). Não foram assinalados os C-β pirrólicos.

### 3.3.26 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-3'-(1''-O-β-D-galactopiranosil-D-xilitol)]porfirina (**52**)



Em um balão de fundo redondo foram adicionados 20 mg (0,011 mmol) da porfirina **36a**, e 20 mL de MeOH. Adicionou-se 0,51 mL de NaOMe 0,5 mol/L nos tempos 0, 5, 10, 15 e 30 min (volume total 2,55 mL de NaOMe, 0,264 mmol). A mistura de reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 150 min. A reação foi neutralizada com resina catiônica. Em seguida o material foi concentrado e purificado em coluna de fase reversa (Waters Sep-Pak C18 35 cm<sup>3</sup>) utilizando com eluente acetonitrila/H<sub>2</sub>O (1:3 v/v) (1,6 mg, 13% de rendimento). RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) (ppm): 10,06 (b, 4H, H-β pirrol), 8,70 (d, 4H, H-β'pirrol), 8,18 (d, 4H, *o*-Ph), 7,90-7,80 (m, 6H, *m* e *p*-Ph), 7,50 (d, 2H, H-1'), 4,83 (b, 2H, H-2'), 4,58 (d, J<sub>1'',2''</sub> = 7,6 Hz, 1H, H-1''), 4,25 (d, 1H, H-1''), 4,04-3,99 (m, 1H, H-3'), 3,94-3,89 (m, 2H, H-4'), 3,84 (dd, 1H, H-3'), 3,73 (d, 1H, H-4''), 3,70 (d, 1H, H-6'a), 3,64 (d, 1H, H-4''), 3,62-3,37 (m, 9H, H-5'a, H-5'b, H-2'', H-3'', H-5''a, H-5''b, H-6''b), -2,84 (b, 2H, NH). RMN de <sup>13</sup>C: 134,0 (4C, *o*-Ph), 127,0-126,7 (6C, *p*-Ph e *m*-Ph), 104,3, 103,7 (2C, C-1''), 83,7, 82,2 (2C, C-3'), 76,9 (2C, C-2'), 75,6, 75,4 (2C, C-5''), 74,4 (2C, C-1'), 73,4, 73,1 (2C, C-3''), 72,4 (2C, C-4'), 71,5, 70,7 (2C, C-2''), 68,1, 68,0 (2C, C-4''), 62,6 (2C, C-6''), 60,4, 60,3 (2C, C-5'). Não foram assinalados os C-β pirrol, C-1Ph, C-*meso*.

### 3.3.24 Síntese da 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'*R*)-2',5'-anidro-3'-(1''-O-β-D-galactopiranosil)-D-lixitol)]porfirina (**53**)



Em um balão de fundo redondo foram adicionados 6 mL de MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2:1), 18,7 mg de NaOMe (0,35 mmol) e 30 mg da porfirina **37** (0,019 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 60 min. A reação foi neutralizada com uma solução de ácido cítrico concentrado. Em seguida o material foi concentrado e purificado em coluna de fase reversa (Waters Sep-Pak C18 35 cm<sup>3</sup>) utilizando com eluente acetonitrila/H<sub>2</sub>O (1:3 v/v) (14,4 mg, 71% de rendimento). RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) (ppm): 9,92 (b, 4H, H-β pirrol), 8,74 (d, 4H, H-β'pirrol), 8,22-8,19 (m, 4H, *o*-Ph), 7,89-7,79 (m, 6H, *m* e *p*-Ph), 7,49 (t, 2H, H-1'), 6,92 (d, 2H, OH), 5,62 (d, 2H, OH), 5,08 (dd, 2H, H-2'), 4,62 (d, 2H, OH), 4,46 (d, 2H, OH), 4,29 (b, 2H, H-3'), 4,26 (b, 2H, H-4'), 4,11- 3,99 (m, 6H, H-5'a, H-5'b, OH), 3,94 (b, 2H, OH), 3,68 (d, 2H, H-1''), 3,35 (b, 2H, H-4''), 3,02- 2,95 (m, 2H, H-2''), 2,89-2,75 (mm, 6H, H-3'', H-5'', H-6''a), 2,55 (b, 2H, H-6''b), -2,92 (b, 2H, NH). RMN de <sup>13</sup>C: 142,4 (2C, C-1Ph), 134,0 (4C, *o*-Ph), 127,9 (2C, *p*-Ph), 126,7 (4C, *m*-Ph), 119,6, 118,8 (4C, C-*meso*, C-*meso* açúcar), 103,1 (2C, C-1''), 90,4 (2C, C-2'), 86,2 (2C, C-3'), 75,2 (2C, C-4'), 74,4, 73,9, 73,7, 73,0 ( 8C, C-1', C-5', C-3'', C-5''), 70,2 (2C, C-2''), 67,2 (2C, C-4''), 59,0 (2C, C-6''). Não foram assinalados os C-β pirrólicos.

### 3.4 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO QUÂNTICO DE OXIGÊNIO SINGLETE

Os rendimentos quânticos de oxigênio singlete foram determinados através do método indireto e utilizando o azul de metileno como substância de referência (ROITMAN et al., 1994). Preparou-se células de vidro contendo 2 mL de solução a uma concentração de 0,5 µmol/L de azul de metileno e 50 µmol/L de DFIBF (da mesma forma realizado para as porfirinas). A irradiação foi a 9 mW/cm<sup>2</sup> na faixa de comprimento de onda de 550–800 nm. Foram tomados os dados obtidos nos 8 minutos iniciais de irradiação onde houve linearidade no decaimento da absorbância do DFIBF e assim pudessem ser aplicados os cálculos de equação da reta respeitando a lei de Lambert-Beer. O rendimento quântico de oxigênio singlete foi obtido pela seguinte equação:

$$\Phi_A = \Phi_A^{Padrão} \frac{R \cdot I_{abs}^{Padrão}}{R^{Padrão} \cdot I_{abs}}$$

Nesta equação  $\Phi_A^{Padrão}$  representa o rendimento quântico das porfirinas e  $\Phi_A^{Padrão}$  representa o rendimento quântico do padrão (para o azul de metileno  $\Phi_A^{Padrão} = 0,52$ ).  $R$  e  $R^{Padrão}$  são os coeficientes angulares do consumo do DFIBF na presença das porfirinas e do azul de metileno. Uma vez que a reação é de primeira ordem, estes parâmetros podem ser obtidos do gráfico que apresenta o logaritmo natural (ln) da absorbância do DFIBF versus o tempo de irradiação.  $I_{abs}$  e  $I_{abs}^{Padrão}$  são as constantes de absorção luminosa para a amostra e para o azul de metileno respectivamente.

### 3.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL *IN VITRO* DAS GLICOPORFIRINAS

#### 3.5.1. Cultura celular

A linhagem celular humana aderente de câncer da bexiga UM-UC-3 foi adquirida da *American Type Culture Collection* (ATCC, Rockville, MD). As células



cresceram em monocamada, em frascos aderentes T75 (Orange Scientific, Belgium), em meio de cultura RPMI-1640 (R4130, Sigma-Aldrich®, St.Louis, USA) suplementado com 2 g.L<sup>-1</sup> de bicarbonato de sódio (Sigma), 2 mmol/L de L-glutamina (Sigma), 10% (v/v) de soro fetal bovino (FBS, 10270-106, Gibco® Invitrogen Life Technologies), 1% (v/v) de penicilina/estreptomicina (15070-063, Gibco® Invitrogen Life Technologies), e 0,1% (v/v) de anfotericina B (5290-018, Gibco® Invitrogen Life Technologies), a 37°C numa atmosfera umedecida com 5% de CO<sub>2</sub> e 95% de ar. As células foram divididas duas vezes por semana, em condições estéreis, numa câmara de fluxo laminar sempre que atingiam uma confluência de cerca de 80%.

### 3.5.2 Condições experimentais e irradiação

As células UM-UC-3 foram destacadas com tripsina, depois contadas e plaqueadas a uma densidade de  $3 \times 10^4$  células/poço em placas de 96 poços (Orange Scientific, Belgium), sendo que ficaram a aderir por 15 h, para que no dia seguinte se adicionassem as diferentes concentrações desejadas de derivados porfirínicos.

Os derivados porfirínicos foram preparados em soluções estoque 2 mmol/L em DMSO, as quais foram guardadas a 0–4°C no escuro. As soluções contendo diferentes concentrações dos derivados porfirínicos foram preparadas a partir da solução estoque em PBS estéril. Nessas soluções, a concentração de DMSO foi inferior a 0.45% (v/v).

Para os experimentos destinados à PDT, as células foram incubadas com os derivados porfirínicos, lavadas com PBS e 100 µL de meio foi adicionado a cada poço. Numa sala escura, as células UM-MC-3 foram irradiadas com um sistema de LEDs que emite luz branca 4,5 mW/cm<sup>2</sup> durante 40 min. Os experimentos no escuro consistiram em manter as células UM-MC-3, no escuro, durante os mesmos períodos e sob as mesmas condições que as células irradiadas. Em todos os experimentos, poços em triplicados foram estabelecidos em cada condição experimental, e cada experiência foi repetida pelo menos três vezes.

### 3.5.3. Viabilidade celular

A viabilidade celular foi determinada 24 horas após os experimentos, pelo método colorimétrico de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT). Este método permite a quantificação de células viáveis e avaliar a atividade de agentes citotóxicos em células tumorais. É um método baseado na redução do sal de tetrazólio (de cor amarela) a cristais de formazan roxos insolúveis em água, por ação da enzima mitocondrial succinato desidrogenase que se encontra ativa nas células viáveis. Estes cristais são depois dissolvidos numa solução de isopropanol ácido (HCl 0,04 mol/L), adquirindo uma cor roxa/azul cuja absorbância pode ser medida por espectrofotometria num leitor de microplacas ELISA. A percentagem de células viáveis em relação aos respectivos controles (células sem qualquer tipo de tratamento) foi calculada a partir da seguinte fórmula:

$$Viabilidade\ celular\ (\%) = \frac{absorv\ancia\ (amostra)}{absorv\ancia\ (controle)} \times 100$$

### 3.5.4 Determinação da concentração intracelular dos derivados porfirínicos

Após a incubação com os derivados porfirínicos no escuro, as células UM-UC-3 foram imediatamente lavadas com tampão PBS e lisadas com 1% de dodecilsulfato de sódio m/v (SDS; Sigma) em tampão PBS a pH 7,0. A concentração intracelular de porfirinas foi determinada por espectrofluorimetria utilizando o equipamento IVIS Lumina XR (Caliper Life Sciences, Hopkinton MA) com excitação e emissão de comprimentos de onda definidos em 360/40 e 645/40 nm, respectivamente. A concentração intracelular dos derivados porfirínicos foi obtida após determinar o declive de uma curva de concentração do derivado vs fluorescência. A concentração intracelular foi posteriormente normalizada para a quantidade de proteína total determinada pelo método do ácido bicinonínico usando o Pierce BCA Protein Assay Kit-Reducing Agent Compatible da Thermo Scientific.

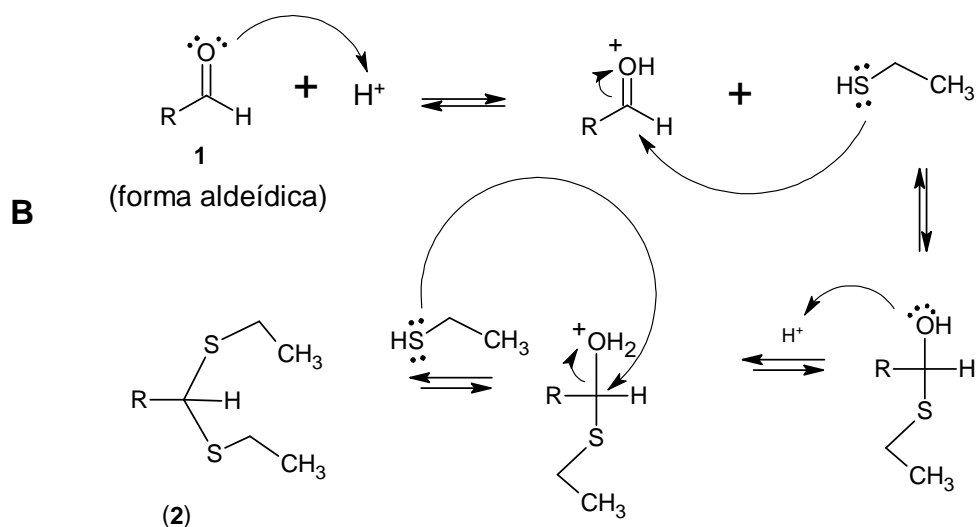
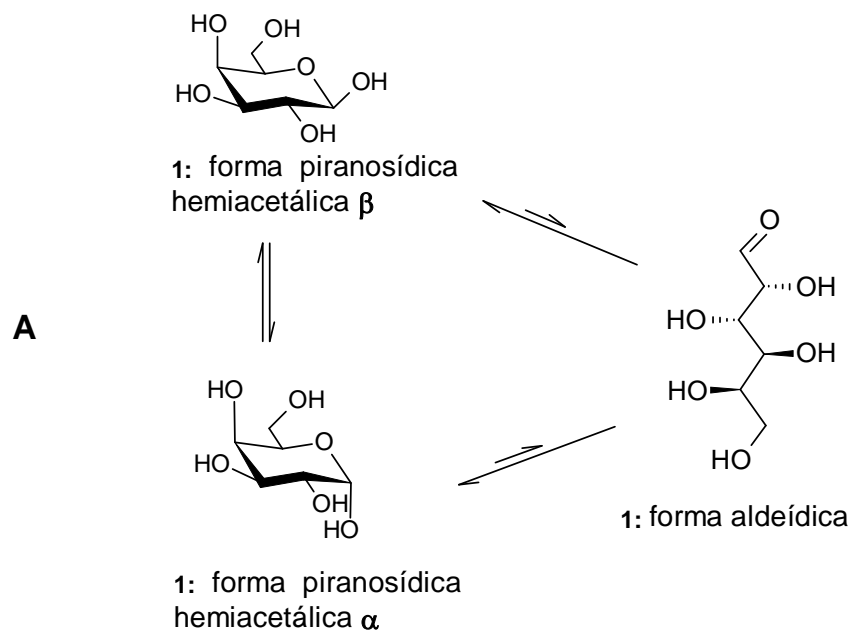
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 SÍNTESE DOS BLOCOS ESTRUTURAIS GLICÍDICOS

#### 4.1.1 Síntese dos derivados glicosídeos dietilditioacetil

O presente trabalho foi iniciado por meio da síntese dos precursores glicídicos sintéticos necessários para a síntese das glicoporfirinas delineadas, em acordo com os objetivos propostos (item 1.1). Para tal, foram utilizados como materiais de partida três monossacarídeos (galactose, glucose e manose), um dissacarídeo (lactose) e um polissacarídeo (agarose). Uma vez que a abordagem sintética a ser utilizada envolvia o preparo de intermediários dipirrometanos, fez-se necessário a obtenção dos carboidratos acima mencionados apresentando suas hidroxilas devidamente protegidas e suas funções aldeídos expostas. Uma forma eficiente de alcançar este objetivo consiste na proteção inicial da função aldeído, garantindo que o carboidrato mantenha-se na forma de cadeia aberta. Sequencialmente, protegeu-se as hidroxilas e reconstituiu-se o grupo aldeído.

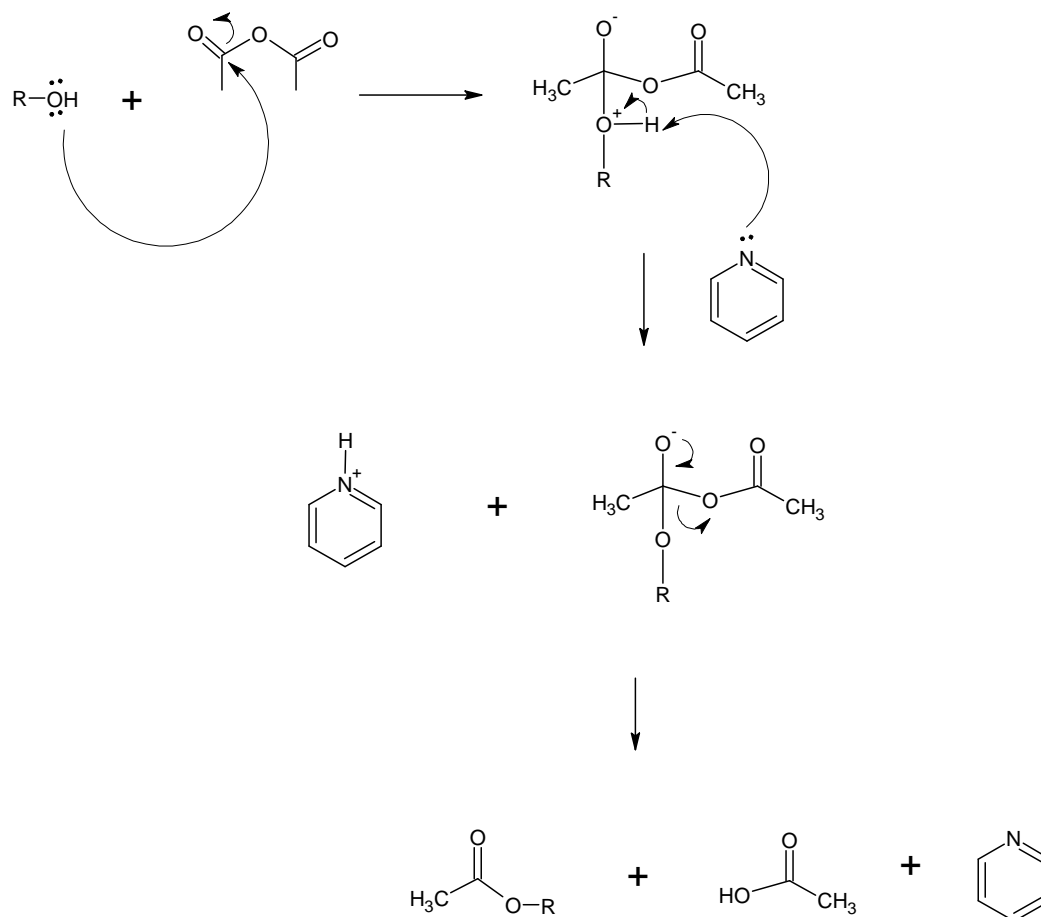
No presente trabalho, a proteção do grupo aldeído foi realizada através da conversão do mesmo em um tioacetil, em meio ácido, na presença de um tiol. Para um melhor entendimento dos eventos relacionados com a obtenção dos derivados dietil ditioacetais a partir de carboidratos, deve-se considerar que, quando solubilizadas, as aldohexoses tendem a apresentar-se em sua forma cíclica piranosídica, onde C-1 encontra-se em sua forma hemiacetálica. Neste caso, existem duas possibilidades em relação à orientação do OH-1, acima ou abaixo do plano do anel ( $\alpha$  ou  $\beta$ , respectivamente). Ainda, uma pequena proporção do carboidrato apresenta-se na forma de cadeia aberta, com o C-1 assumindo sua forma de aldeído (ESQUEMA 11A). Uma vez que a reação de adição entre o carbono carbonílico e o tiol consome especificamente a forma aldeídica do carboidrato, o equilíbrio se reestabelece para a contínua disponibilização do sustrato da reação até o consumo total do material inicial. Assim, apesar da forma aldeídica das aldohexoses serem minoritárias em solução, ao final da reação, o produto é representado pelo ditioacetil de cadeia aberta (ESQUEMA 11B).



Esquema 11 – A: Formas de equilíbrio de uma aldohexose (neste caso, a galactose **1**) em solução. B: Mecanismo de formação dos derivados dietilditioacetais a partir de um açúcar.

Após a obtenção dos derivados dietil ditioacetais, era necessária a proteção das hidroxilas destes compostos para garantir a solubilidade dos intermediários de síntese posteriores em solventes orgânicos. No presente trabalho, optou-se principalmente pela proteção por acetilação, convertendo as hidroxilas livres para a

forma de ésteres de acetila (ESQUEMA 12). Esta escolha foi baseada na facilidade de introdução e remoção dos grupos acetila, bem como na biocompatibilidade dos mesmos. Desta forma, as glicoporfirinas peracetiladas a serem obtidas poderiam ser submetidas à testes biológicos tanto em sua forma acetilada quanto em sua forma desacetilada. Além da acetilação, outras formas de proteção de hidroxilas também foram avaliadas.



Esquema12- Mecanismo de acetilação dos derivados glicídicos na presença de piridina e anidrido acético.

Com base nas informações acima discutidas, a conversão da galactose (**1**) para seu derivado dietilditioacetal acetilado foi feita de duas maneiras (método **A** e método **B**). O método **A** envolveu uma síntese em dois passos com purificação entre os mesmos. O primeiro passo consistiu na reação entre D-galactose, etanotiol e HCl

concentrado. Nestas condições foi obtido o composto **2** na forma de cristais com rendimento de 29%. O segundo passo foi realizado através da peracetilação do composto **2** com anidrido acético na presença de piridina em temperatura ambiente. O composto **3** foi obtido com 95% de rendimento na forma de cristais (ESQUEMA 13).

O método **B** consistiu numa reação utilizando os mesmos reagentes do método **A**, porém sem a purificação entre os dois passos. Este método proporcionou um rendimento global de 41%.

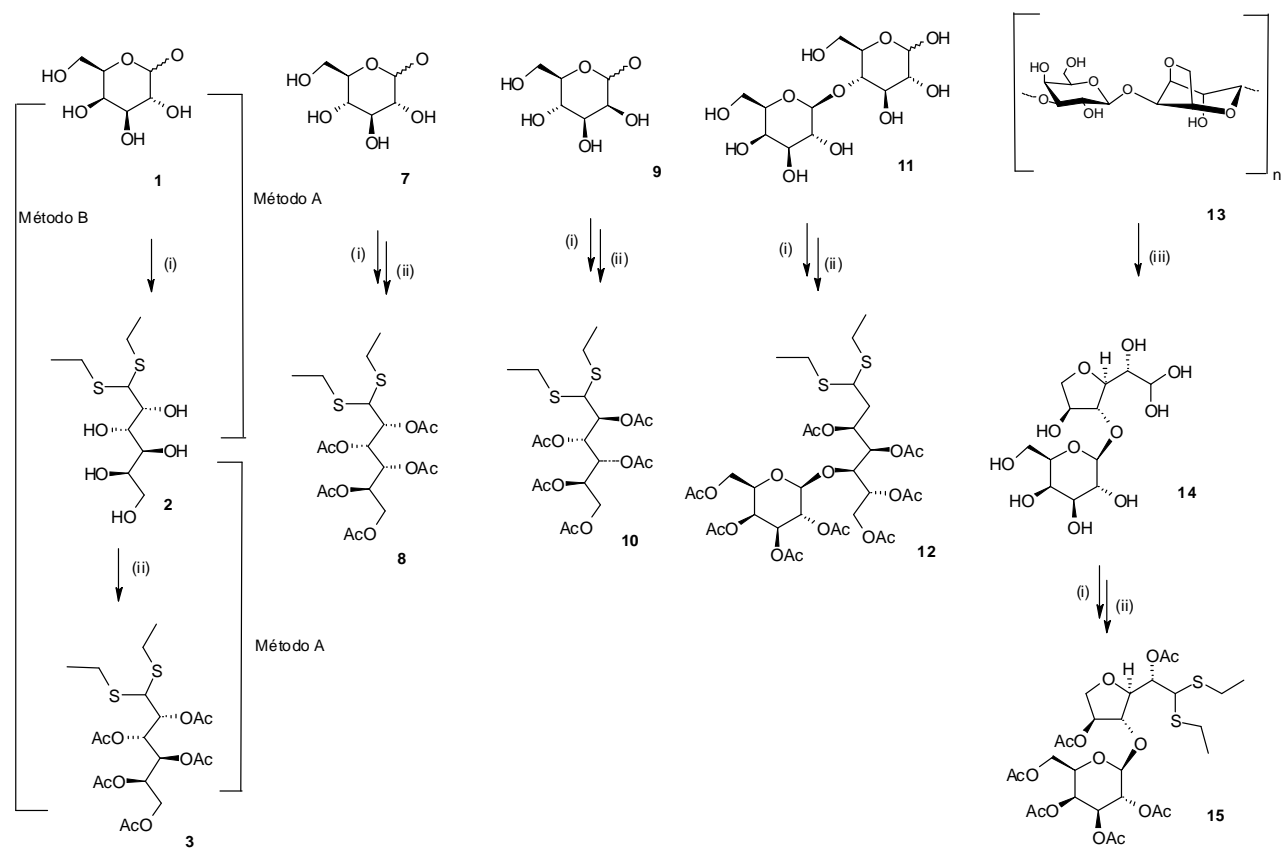
De maneira geral, os outros açúcares foram convertidos nos seus derivados dietil ditioacetal peracetilados de forma semelhante ao método **B**, realizada para a galactose (ESQUEMA 13).

É importante ressaltar que a agarose (**13**) exigiu um passo de síntese a mais em comparação com outros açúcares. Este polissacarídeo foi submetido à hidrólise redutiva parcial utilizando TFA 0,1 mol/L para gerar a agarobiose (**14**). Posteriormente, este dissacarídeo foi convertido em seu derivado dietilditioacetal acetilado (**15**).

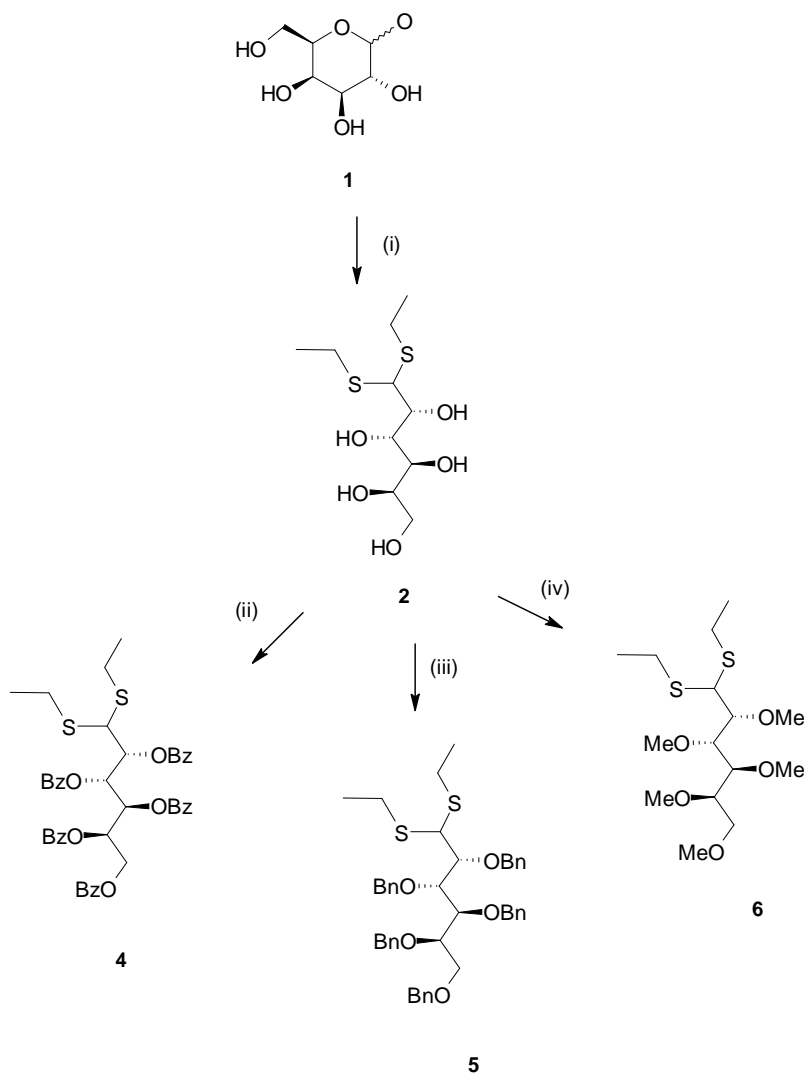
Os rendimentos obtidos para os compostos **8**, **10**, **12** e **15** foram 98%, 95%, 67% e 46% respectivamente.

Entre os glicosídeos utilizados na reação com HCl e etanotiol, somente a galactose (**1**) levou à formação de um precipitado. Foi por esta razão que o rendimento apresentado foi o mais baixo em comparação com outros açúcares. No entanto, a precipitação do produto é vantajosa em reações em grande escala, já que não há necessidade de cromatografias para a purificação do produto.

As hidroxilas da galactose dietilditioacetal (**2**) também foram protegidas através de outros grupos, especificamente, com os grupos benzoila, benzila e metila (ESQUEMA 14). A reação de benzoilação foi conduzida com cloreto de benzoila, na presença de DMAP; a benzilação com brometo de benzila e NaH; e a metilação com iodeto de metila e NaOH. Os rendimentos obtidos para os compostos **4**, **5** e **6** foram 65%, 72% e 76% respectivamente. Os mecanismos de reação para a formação destes compostos são mostrados nos Esquemas 15, 16 e 17.

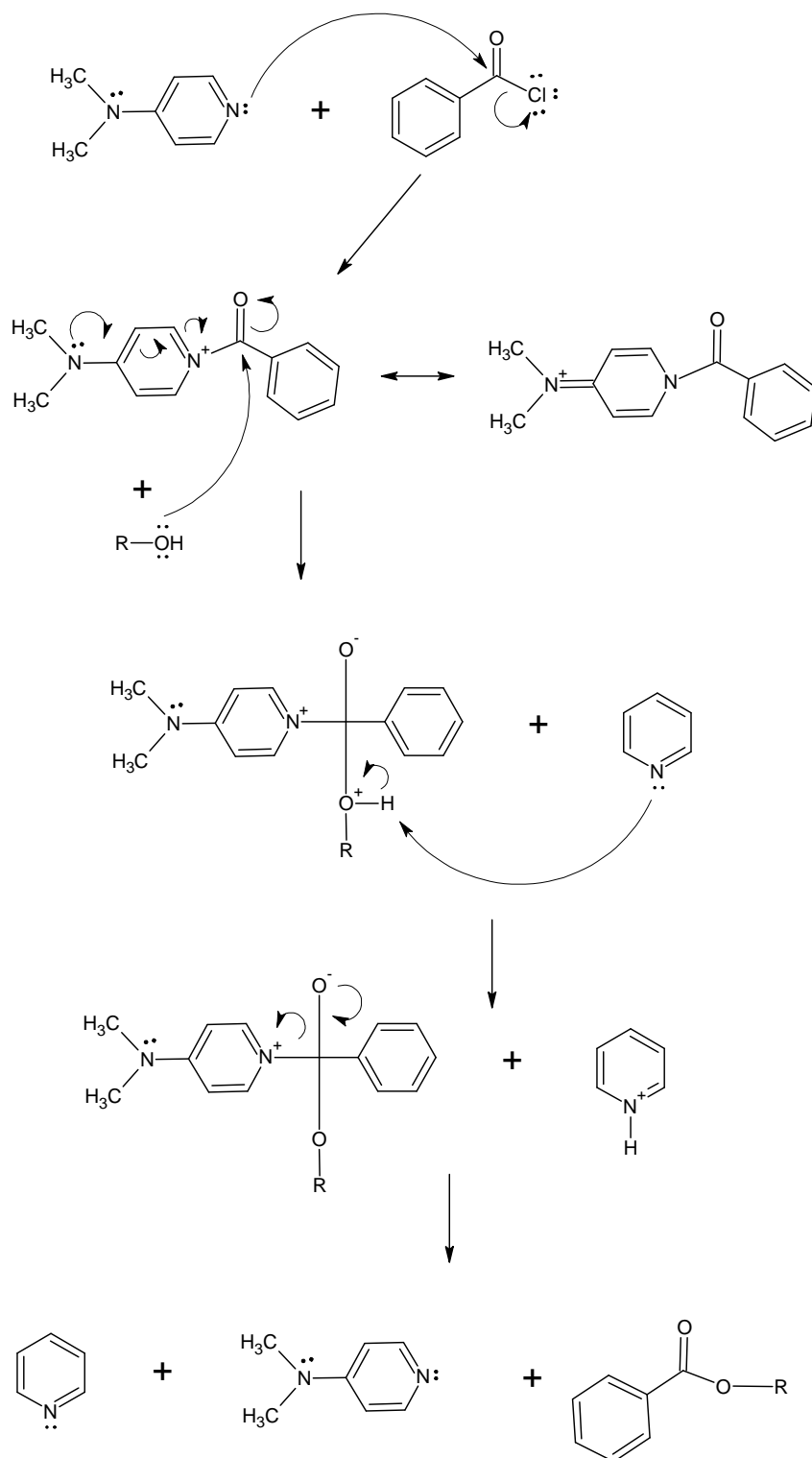


Esquema 13- Síntese dos compostos **3**, **8**, **10**, **12** e **15**. Condições experimentais: i) HCl concentrado, EtSH, 0°C; ii) Ac<sub>2</sub>O, piridina, t.a., 18h; iii) TFA 1mol/L, H<sub>2</sub>O, 80°C.

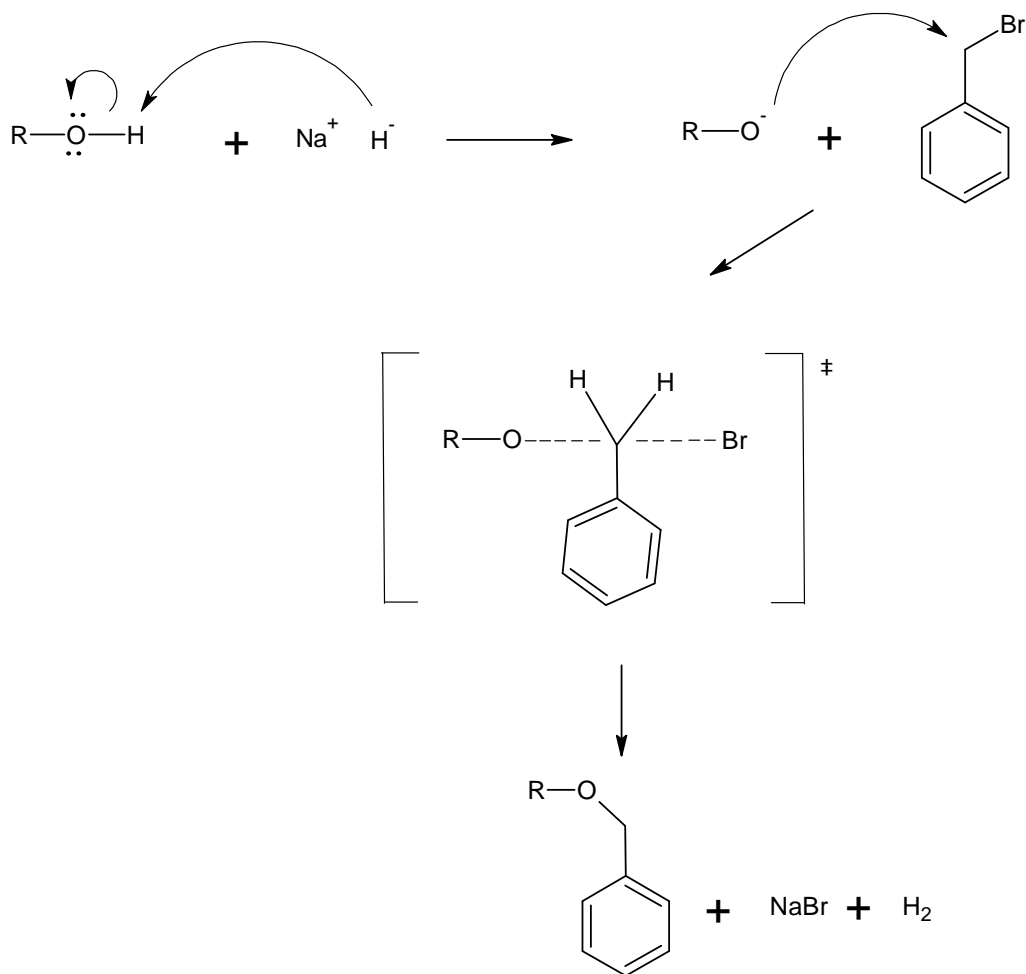


Esquema 14- Síntese dos compostos **4**, **5** e **6**. Condições experimentais: i) HCl concentrado, EtSH, 0°C; ii) DMPA, piridina, cloreto de benzila, 0°C, 30 min, t.a., 23 h; iii) brometo de benzila, DMF, NaH, 2 h; iv) DMSO, NaOH, MeI, 8 min, 15°C.



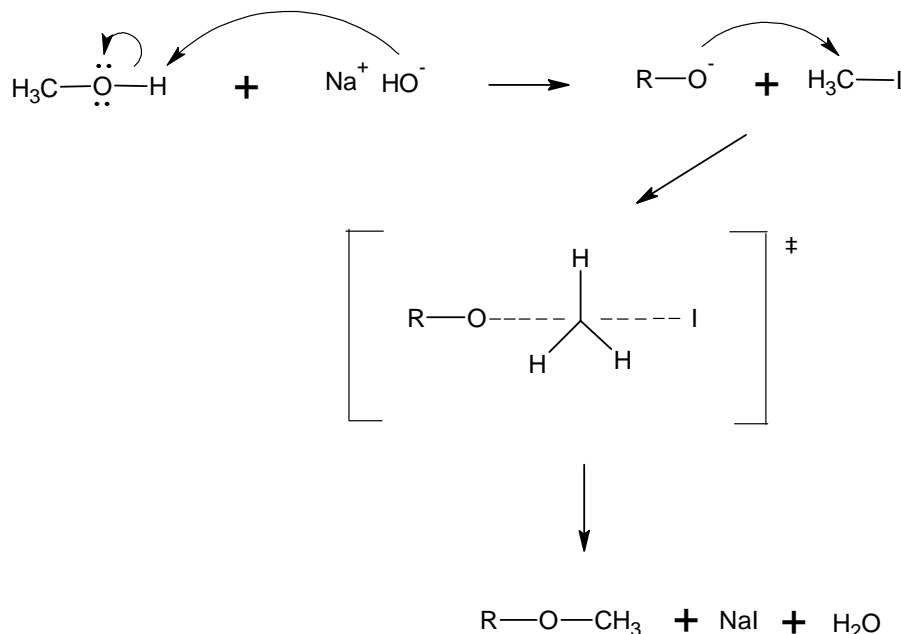


Esquema 15- Mecanismo de benzoilação da galactose dietildioacetal na presença de piridina e DMAP (dimetilaminopiridina). O mecanismo mostrado compreende uma substituição em carbono carbonílico de derivado de ácido carboxílico.



Esquema 16- Mecanismo de benzilação da galactose dietilditioacetal na presença de brometo de benzila e hidreto de sódio. O mecanismo mostrado compreende uma substituição nucleofílica bimolecular ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ).

A reação de benzilação ocorre via mecanismo de substituição nucleofílica bimolecular ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ) (ESQUEMA 16). O processo se inicia com a base removendo o próton das hidroxilas do açúcar, gerando assim o grupo alcóxila (nucleófilo forte). Em seguida, o nucleófilo ataca o átomo de carbono benzílico do brometo de benzila, levando à formação de um estado de transição com a ligação C-O parcialmente formada e a ligação C-Br parcialmente rompida. Posteriormente, o brometo deixa a molécula levando consigo o par de elétrons da ligação C-Br e produzindo o éter benzílico correspondente.



Esquema 17- Mecanismo de metilação da galactose dietilditioacetal na presença de hidróxido de sódio e iodeto de metila.

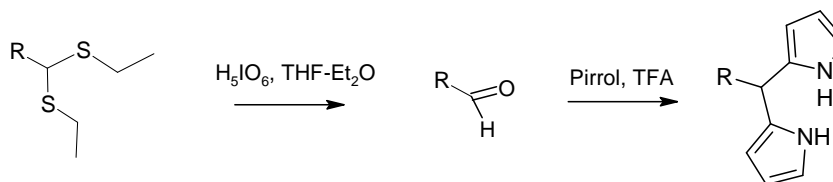
A reação de metilação também ocorre via mecanismo de substituição nucleofílica bimolecular ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ) (ESQUEMA 17). O primeiro passo consiste na desprotonação dos grupos hidroxilas na presença de uma base forte. Nesta etapa são gerados os grupos alcóxila. Na segunda etapa, é adicionado o  $\text{CH}_3\text{I}$  (agente metilante) à solução do alcóxido para produzir éteres metílicos, pelo ataque nucleofílico do íon alcóxila sobre o agente metilante.

#### 4.1.2 Síntese dos glicodipirrometanos

Os dipirrometanos-5-substituídos são importantes precursores na síntese de porfirinas *meso*-substituídas (LITTLER et al, 1999), especialmente na obtenção de porfirinas apresentando substituintes não-idênticos ligados às posições *meso* do macrociclo. Dentro dos estudos fotodinâmicos já relatados na literatura, ficam claros os vários benefícios proporcionados por porfirinas menos simétricas no que diz respeito principalmente à captação destes fotossensibilizadores pela célula-alvo (FERRAND *et. al.* 2003; BANFI *et. al.*, 2006).

Para a obtenção dos derivados glicodipirrometanos, os carboidratos na forma de dietilditioacetais peracetilados foram convertidos nos seus derivados aldeídos

correspondentes. Nesta etapa os dietilditioacetais foram hidrolisados utilizando ácido periódico em uma mistura de tetra-hidrofurano/éter (SHI; KHANAPURE; ROKACH, 1996). Dessa forma, evitou-se o uso de sais tóxicos de mercúrio, reagentes amplamente utilizados na clivagem de grupos ditioacetal. Posteriormente, reagiu-se o derivado aldeído com excesso de pirrol (1:25) na presença de TFA (ESQUEMA 18).



Esquema 18: Síntese dos glicodipirrometanos a partir dos derivados dietilditioacetal.

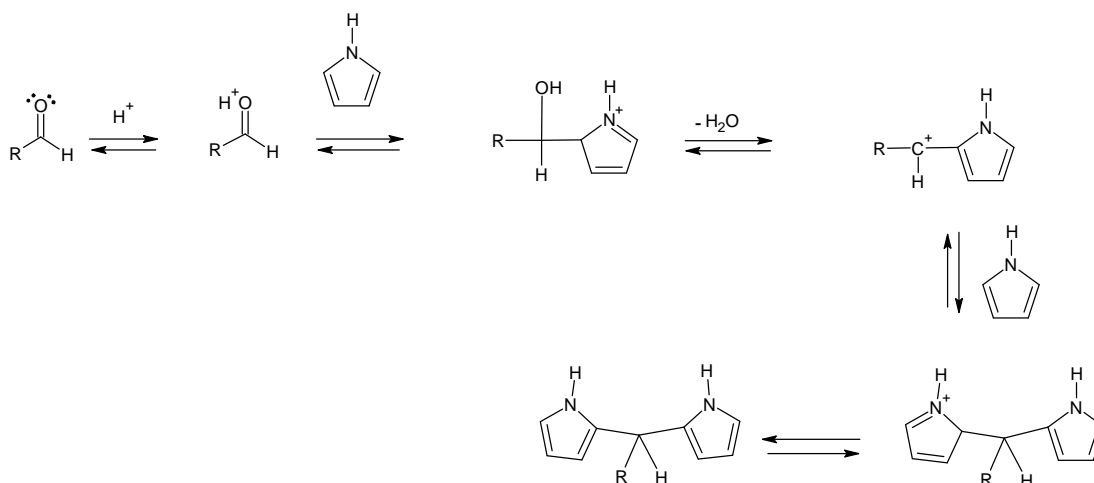
Neste trabalho, foi realizada uma avaliação da síntese dos dipirrometanos por meio de reações entre aldeído **16** e excesso de pirrol na presença de TFA (TABELA 2, ESQUEMA 19).

Primeiramente, investigou-se o efeito da temperatura e a presença de atmosfera inerte nestas reações (Tabela 2, entradas 1, 2, 3, 4, 5 e 6). A observação dos resultados obtidos em ausência de atmosfera inerte (Tabela 2, entradas 1, 2 e 3) indicou que quanto menor a temperatura, maior foi o rendimento obtido. Porém, na presença de atmosfera inerte os rendimentos mais elevados ocorreram em temperaturas mais altas. Desta forma, concluiu-se que a atmosfera inerte previne a degradação mediada por temperatura do dipirrometano formado.

Também foi realizada uma avaliação da influência da técnica de purificação no rendimento do dipirrometano (Tabela 2, entradas 6 e 7). Comparando-se o procedimento envolvendo a purificação cromatográfica do aldeído **16** (Tabela 2, entrada 7) com o procedimento onde a única técnica de purificação foi uma extração líquido-líquido, foi observada a superioridade do procedimento mais simples. Este fato pode ser explicado por perdas durante a cromatografia e que as possíveis impurezas presentes no extrato não comprometeram a síntese do dipirrometano.

**Tabela 2-** Condições experimentais para a síntese do glicodipirrometano **24**.

Entrada	Temperatura (°C)	Atmosfera	Purificação do aldeído	Rendimento
1	50	Ar atmosférico	Extração <sup>a</sup>	27% <sup>c</sup>
2	30	Ar atmosférico	Extração <sup>a</sup>	30% <sup>c</sup>
3	0	Ar atmosférico	Extração <sup>a</sup>	40% <sup>c</sup>
4	0	Argônio	Extração <sup>a</sup>	40% <sup>c</sup>
5	50	Argônio	Extração <sup>a</sup>	56% <sup>c</sup>
6	30	Argônio	Extração <sup>a</sup>	59% <sup>c</sup>
7	30	Argônio	Cromatografia <sup>b</sup>	35% <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Extrato clorofórmico concentrado a partir da reação com o ácido periódico<sup>b</sup> Coluna cromatográfica de sílica gel do extrato clorofórmico concentrado<sup>c</sup> Rendimento do composto 15 a partir do derivado dietilditioacetal<sup>d</sup> 60% (rendimento do aldeído) e 58% (rendimento do composto **24**)

Esquema 19 - Mecanismo de reação para a formação do dipirrometano.

A melhor condição encontrada para a síntese de glicodipirrometano **24**, definida na Tabela 2 (entrada 6), foi aplicada aos diferentes aldeídos derivados de açúcares (ESQUEMA 20, página 137).

O dipirrometano acetilado derivado da agarobiose apresentou rendimento maior (62%) em comparação com os derivados acetilados dos monossacarídeos (50-59%) e do dissacarídeo lactose (30%). Concluiu-se que o aldeído C-glicosídeo é mais reativo que os aldeídos alditóis na formação dos dipirrometanos.

Um dos aspectos a serem considerados a partir da síntese de dipirrometanos refere-se à estabilidade dos produtos formados, uma vez que estes compostos são facilmente oxidados. Vários trabalhos dedicados à síntese de dipirrometanos abordam aspectos relacionados à estabilidade destes compostos. Segundo Lee e Lindsey, em geral, os dipirrometanos são estáveis quando armazenados a 0°C sob abrigo da luz. Além disso o uso de 1% de trietilamina na fase móvel é essencial na prevenção da decomposição do dipirrometano nas colunas de sílica, a qual é levemente ácida (LEE; LINDSEY, 1994). É importante destacar que os glicodipirrometanos obtidos neste trabalho mostraram-se instáveis em  $\text{CHCl}_3$ . Durante os experimentos de RMN, observou-se o escurecimento da solução dos dipirrometanos em  $\text{CDCl}_3$ . Em contrapartida, os glicodipirrometanos são estáveis quando armazenados no congelador em DMSO deuterado por vários dias.

Como os compostos **24**, **25**, **26**, **27**, **28**, **29**, **30** e **31** eram inéditos na literatura, seus assinalamentos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  foram determinados com auxílio das técnicas de ressonância magnética nuclear bidimensionais COSY E HSQC. Através do COSY foi possível correlacionar os deslocamentos químicos dos núcleos de  $^1\text{H}$  vicinais acoplados. Já pelo HSQC determinou-se as correlações entre os carbonos e hidrogênios diretamente ligados. As Figuras 8 e 9 mostram o mapa de correlação  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  e  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ , respectivamente, do composto **24**.

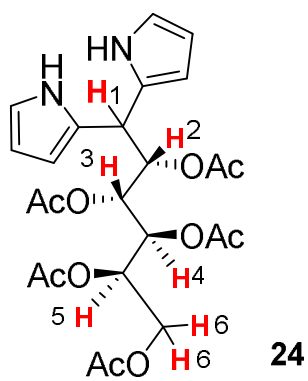
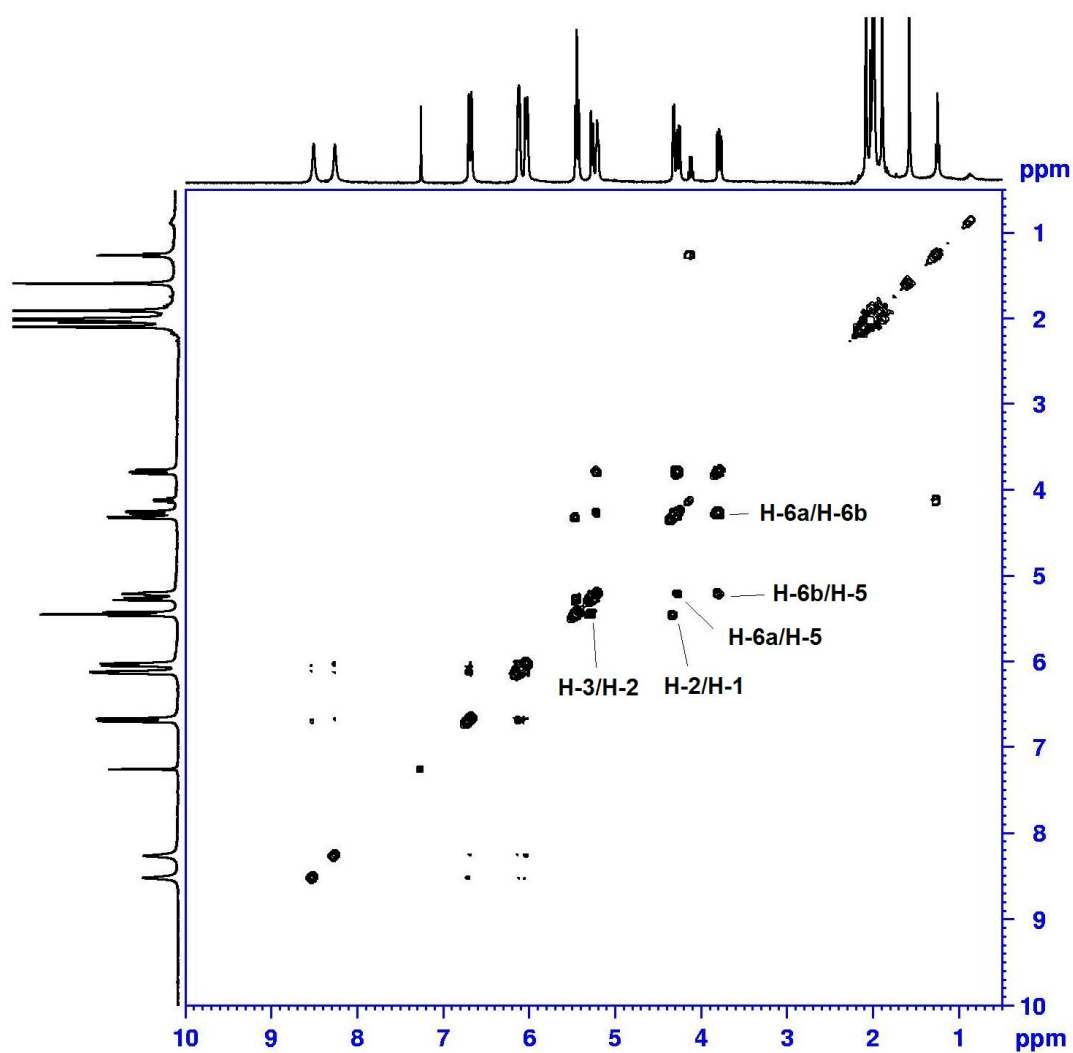


Figura 8- Mapa de correlação direta  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  do composto **24** (em  $\text{CDCl}_3$ , a  $30^\circ\text{C}$ ).

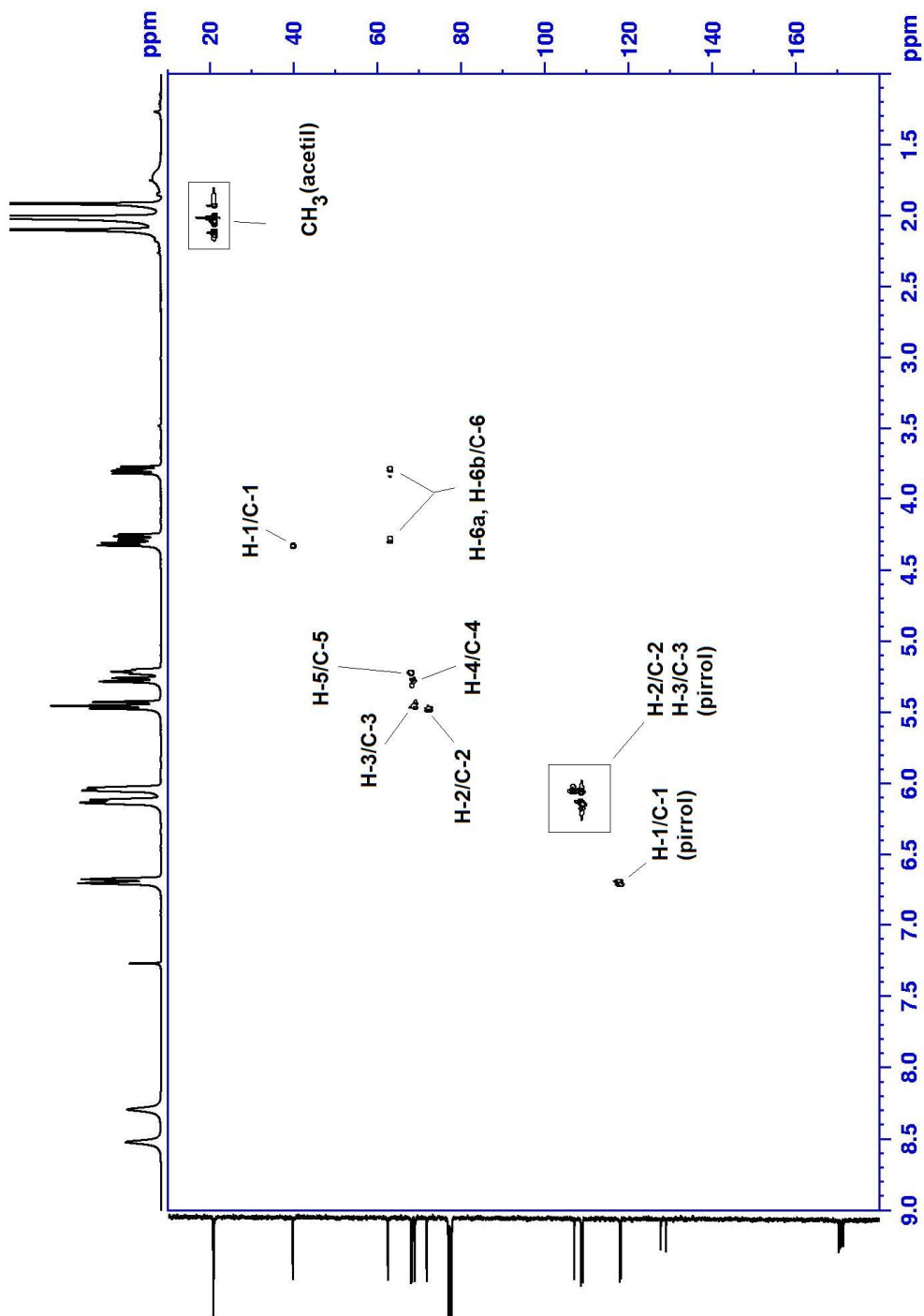
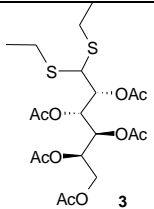
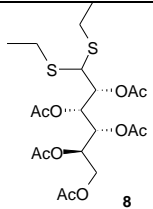
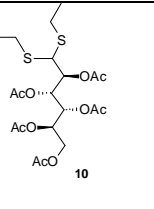
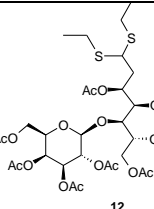
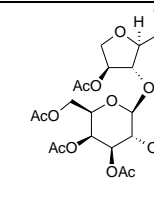
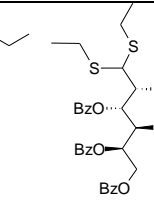
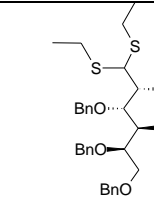
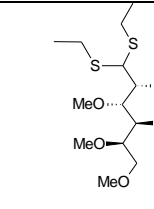
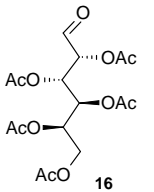
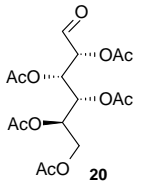
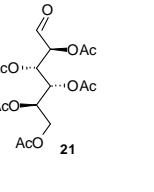
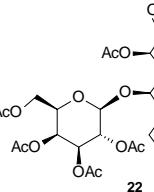
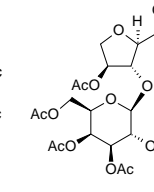
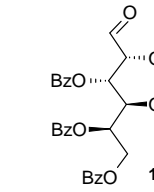
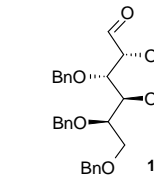
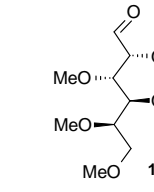
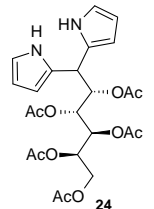
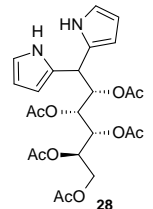
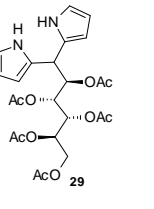
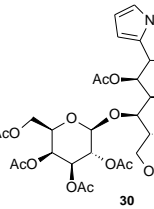
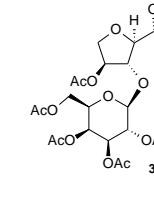
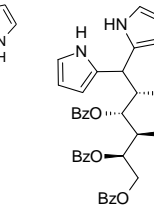
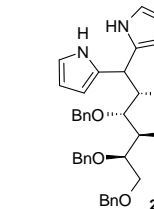
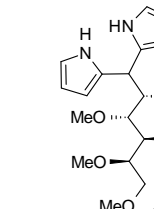


Figura 9- Mapa de correlação direta  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  do composto **24** (em  $\text{CDCl}_3$ , a  $30^\circ\text{C}$ ).



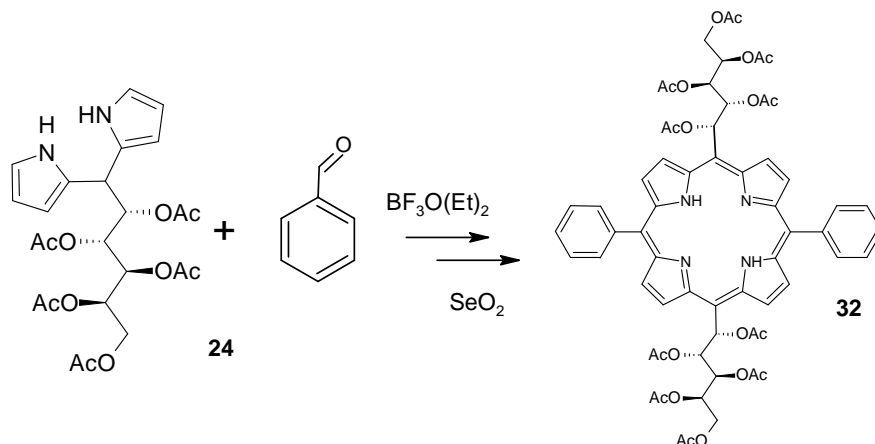
Entrada	1	2	3	4	5	6	7	8
Derivados dietil-tidioacetal	 3	 8	 10	 12	 15	 4	 5	 6
Tempo de oxidação	20 min	20 min	20 min	60 min	20 min	20 min	20 min	15 min
Derivados aldeídos	 16	 20	 21	 22	 23	 17	 18	 19
Condensa- ção	30 min	30 min	30 min	30 min	30 min	100 min	25 min	220 min
Dipirrome- tanos	 24	 28	 29	 30	 31	 25	 26	 27
Rendimento	59%	50%	50%	33%	62%	85%	65%	37%

Esquema 20 – Síntese dos compostos **24**, **25**, **26**, **27**, **28**, **29**, **30** e **31**. Condições experimentais: (i) H<sub>5</sub>IO<sub>6</sub>, THF-Et<sub>2</sub>O, t.a

## 4.2 OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DAS GLICOPORFIRINAS **32** e **33**

Dentro do universo da síntese orgânica, o rendimento da síntese de porfirinas é usualmente muito inferior aos obtidos para outras classes de compostos. Em se tratando de porfirinas tetrakis-*meso*-substituídas (quatro ligantes idênticos nas posições *meso*), os rendimentos alcançam cerca de 50%, nos melhores casos. Na síntese de porfirinas menos simétricas, rendimentos abaixo de 20% são usuais de acordo com a literatura (CASIRAGHI *et al.*, 1994; LIU *et al.*, 2009; LÓ *et al.*, 2011). Estes rendimentos muitas vezes são de difícil reprodução e dependem de vários fatores, tais como período de condensação, concentração do ácido, pirrol, aldeído, assim como a presença de água nos solventes, escolha do oxidante e catalisador ácido (LINDSEY *et al.*, 1987). Desse modo, foram estudadas várias condições de síntese do composto **32**, as quais estão descritas na Tabela 3.

A primeira tentativa de síntese do composto **32** foi realizada por meio do método previamente desenvolvido no laboratório onde este trabalho foi realizado (LÓ *et al.*, 2011). Este método compreende uma síntese em dois passos, utilizando-se o mesmo frasco de reação (“one-pot, two-step synthesis”). Na primeira etapa realiza-se condensação entre aldeído e pirrol (ou um dipirrometano) na presença de quantidades catalíticas de  $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ , seguindo-se da segunda etapa onde é realizada a oxidação do porfirinogênio formado, na presença de excesso do oxidante sólido,  $\text{SeO}_2$ . Por meio da utilização das condições definidas no trabalho mencionado, a reação entre o dipirrometano **24** e benzaldeído (ESQUEMA 21) forneceu um rendimento de 11% para a porfirina **32** (Tabela 3, entrada 1).



Esquema 21: Reação entre a o dipirrometano **24** e benzaldeído.

**Tabela 3-** Condições experimentais para a síntese da glicoporfirina **32**.

Entrada	Tempo de condensação (min)	T Condensação (°C)	SeO <sub>2</sub> (mmol)	Tempo de oxidação (min)	T Oxidação (°C)	Rendimento (%)
1	30	t.a.	15	60	t.a.	11
2	30	t.a.	10	60	t.a.	17
3	15	t.a.	10	60	t.a.	5
4	180	0	10	60	t.a.	4
5	30	60	10	60	t.a.	21
6	30	60	5	60	t.a.	22
7	30	60	10	30	t.a.	9
8	30	60	10	60	0	18

A primeira modificação avaliada consistiu na alteração da quantidade de SeO<sub>2</sub> adicionada ao meio reacional (Tabela 3, entradas 1 e 2). Observou-se que 10 mmol de SeO<sub>2</sub> levou ao acréscimo do rendimento em comparação com os 15 mmol de SeO<sub>2</sub> (quantidade pré-estabelecida para síntese de *meso*-tetrarilporfirinas).

Por sua vez, investigou-se o efeito do tempo e da temperatura de condensação correspondente à primeira etapa da reação (Tabela 3, entradas 3, 4 e 5). Neste caso, a diminuição do tempo de condensação para 15 minutos a temperatura ambiente acarretou o decréscimo do rendimento. O mesmo efeito foi observado quando a reação foi mantida a 0 °C por 180 minutos. Portanto, a melhor condição encontrada foi 30 minutos de condensação a 60 °C, na qual obteve-se um rendimento de 21%.

A influência do tempo e a temperatura de oxidação do meio de reação também foram avaliadas (Tabela 3, entradas 6, 7 e 8). Neste estudo observou-se que tanto a diminuição da temperatura quanto a redução do tempo de oxidação levaram ao decréscimo do rendimento para 9% e 18 %, respectivamente. A redução adicional na quantidade de SeO<sub>2</sub> ao meio de reação para 5 mmol ainda resultou em um pequeno acréscimo no rendimento.

Portanto, as condições ideais definidas para a síntese da glicoporfirina **32** corresponderam a mistura de 1 mmol de dipirrometano em 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0,07 mmol de BF<sub>3</sub>O(Et)<sub>2</sub> e 1 mmol de benzaldeído. Este meio de reação é mantido sob

agitação por 30 minutos a 60 °C. Em seguida, adiciona-se SeO<sub>2</sub>, sendo a mistura então mantida por mais 60 minutos a temperatura ambiente (Tabela 3, entrada 6).

É importante ressaltar que nas reações para a síntese da glicoporfirina **32** foi observada o “scrambling” (embaralhamento), pois foram formadas as porfirinas do tipo A<sub>3</sub>B e a porfirina AB<sub>3</sub>. Apesar deste evento, as quantidades isoladas das porfirinas resultantes de “scrambling” não chegaram a alcançar rendimentos de 1%. Estas porfirinas foram analisadas por espectrometria de massa e RMN de <sup>1</sup>H confirmando os produtos de embaralhamento. Nos espectros de massas foram obtidos os íons de *m/z* 899 e 1468, correspondente à massa das glicoporfirinas mais um H<sup>+</sup> (FIGURAS 10 e 11, respectivamente).

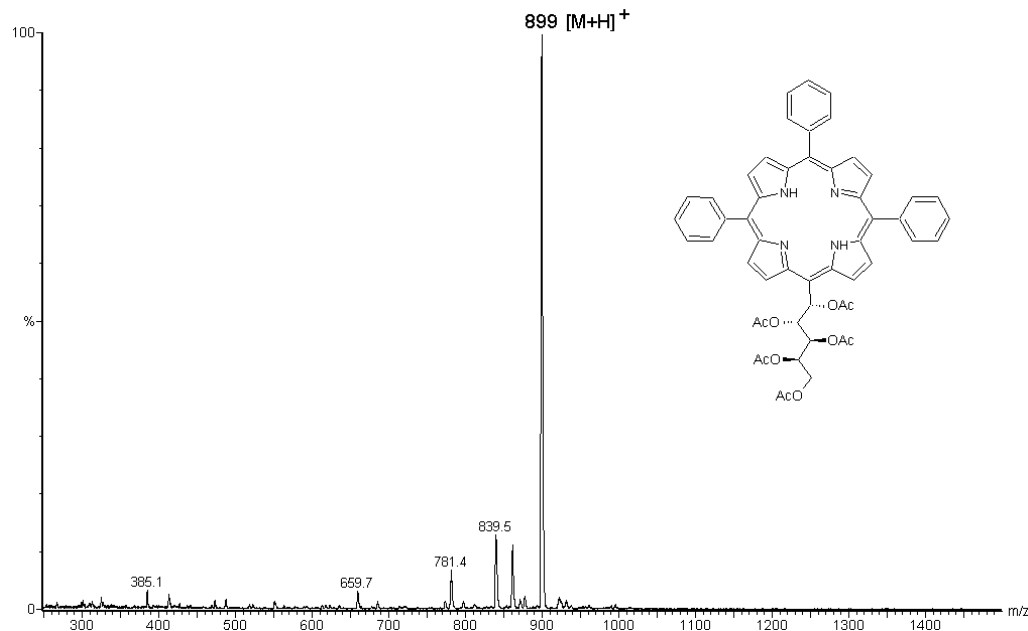


Figura 10: Espectro de massa da glicoporfirina **32a** (porfirina A<sub>3</sub>B).

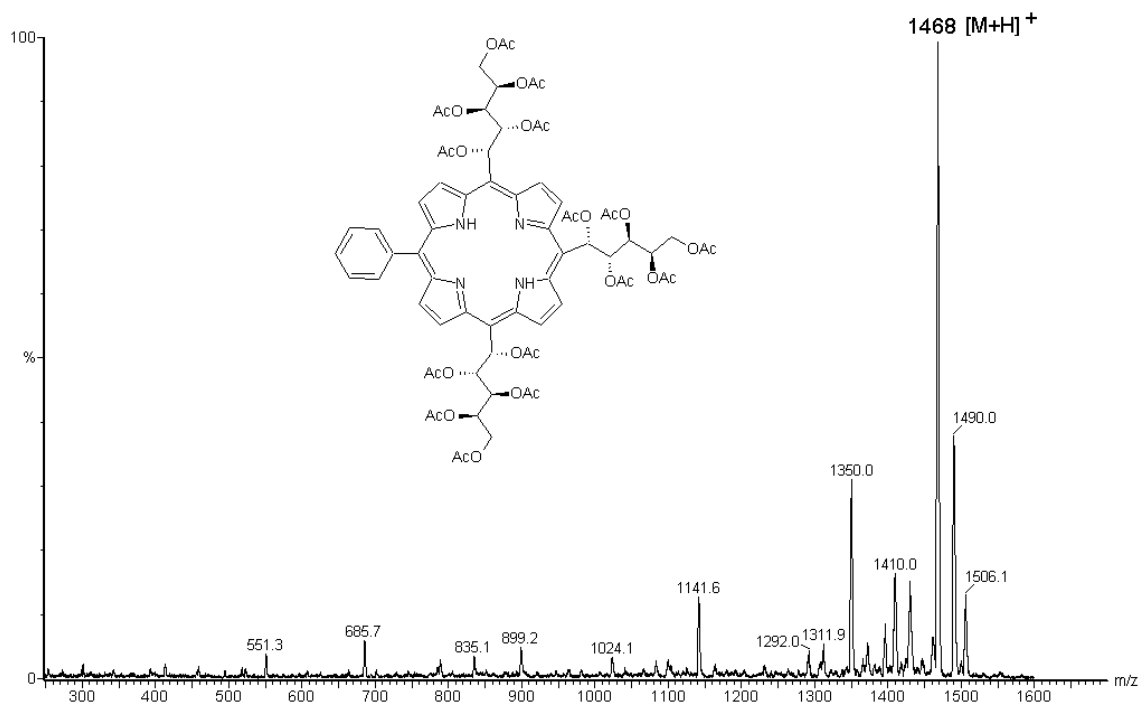
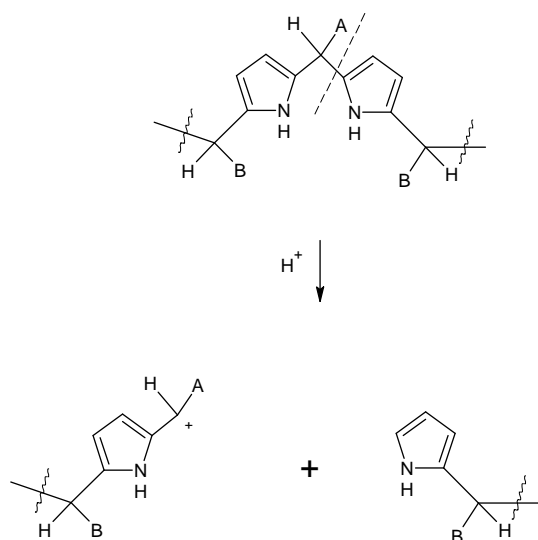


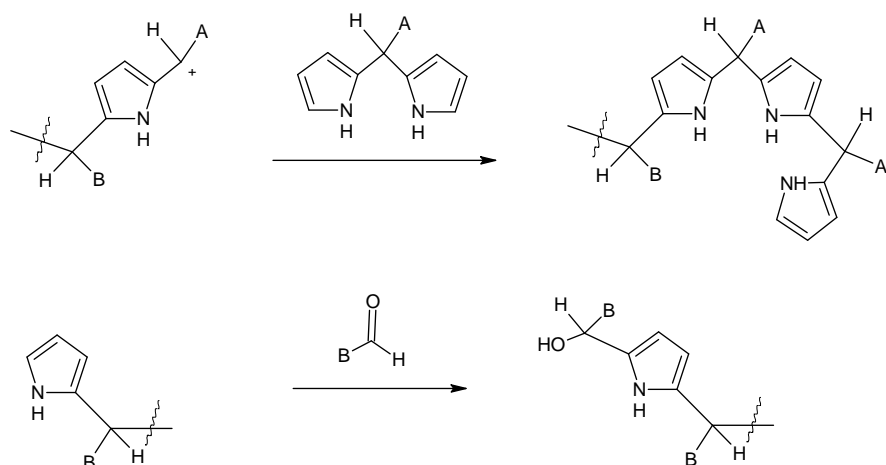
Figura 11: Espectro de massa da glicoporfirina **32b** (porfirina AB<sub>3</sub>).

O “*scrambling*” pode ser explicado por dois processos (ESQUEMA 22). O primeiro processo é a ocorrência de acidólise na porção do dipirrometano (antes ou depois do dipirrometano ser incorporado ao oligômero em formação), resultando em 2 fragmentos. Esta etapa de clivagem é um pré-requisito para o “*scrambling*”. O segundo processo corresponde a uma reação (recombinação) do oligômero clivado com o material inicial ou outros oligômeros, de tal forma a alterar a ordem desejada de substituintes. Assim, a condensação entre dipirrometano e aldeído pode resultar em três tipos de espécies oligoméricas: oligômero “desejado”, oligômero originado da acidólise, oligômero “embaralhado” resultante da acidólise e da recombinação indesejada (ESQUEMA 23) (GEIR III; LITTLER; LINDSEY, 2001).

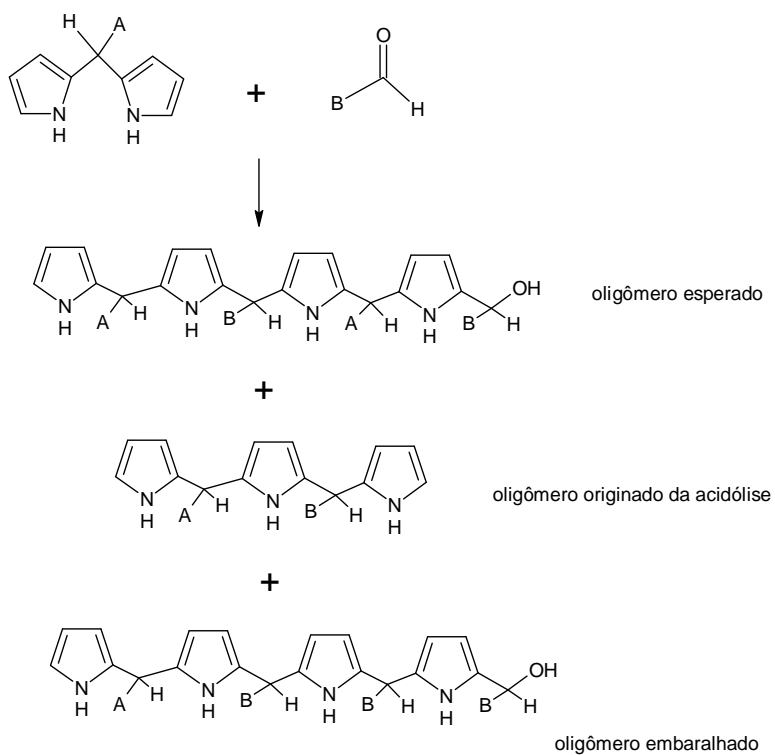
## (1) Acidólise



## (2) Recombinação indesejável de fragmentos



Esquema 22: Dois processos que levam ao “scrambling”: acidólise e recombinação de fragmentos.



Esquema 23: Os três possíveis tipos de oligômeros formados na condensação do dipirrometano + aldeído

Além dos produtos de *scrambling* formados, foi observado a formação de uma glicoporfirina assimétrica *meso*- $\alpha,\beta$ -insaturada, cuja estrutura é mostrada na Figura 12.

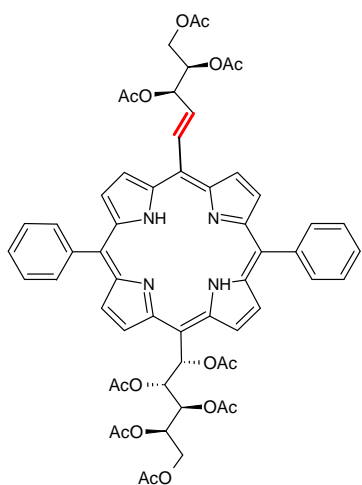


Figura 12: Glicoporfirina assimétrica *meso*- $\alpha,\beta$ -insaturada (**33**).

Existem poucos trabalhos descritos na literatura acerca da síntese de porfirinas *meso*  $\alpha,\beta$ -insaturadas (ANDERSON, 1992; MILGROW; YAHIOGLU, 1996; SERGEEVA; BAKAR; SENGUE, 2009; TAKANAMI *et. al.*, 2011). O interesse por este tipo de porfirina se deve a alteração na faixa e intensidade de absorção pela presença da insaturação (ANDERSON, 1992). Isto pode acarretar mudanças na geração de  $^1\text{O}_2$ , responsável pela atividade citotóxica das porfirinas, em última instância.

A síntese de porfirinas *meso*  $\alpha,\beta$ -insaturadas a partir de aldeídos  $\alpha,\beta$ -insaturados é de difícil realização. A razão disto é explicada pela baixa reatividade dos aldeídos  $\alpha,\beta$ -insaturados em formar o porfirinogênio correspondente. Fateeva e colaboradores obtiveram rendimentos de 4-6% para porfirinas *meso*  $\alpha,\beta$ -insaturadas a partir de aldeídos  $\alpha,\beta$ -insaturados derivados do 1,3-dioxolano (FATEEVA *et. al.*, 2008). Hevesi e colaboradores alcançaram rendimentos que variaram de 0-28% ao utilizarem aldeídos  $\alpha,\beta$ -insaturados na forma de seleno-acetal (HEVESI, RENARD, PROESS, 1986).

Peng e colaboradores obtiveram porfirinas *meso*  $\alpha,\beta$ -insaturadas em três etapas. A primeira etapa compreende a síntese de porfirinas *meso*-alquil substituídas a partir da reação entre dipirrometano e aldeído. Em seguida, estas porfirinas foram metoxiladas, as quais foram convertidas em *meso*  $\alpha,\beta$ -insaturadas na presença de  $\text{BBr}_3$  em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e  $\text{HCl}/\text{MeOH}$  (PENG *et. al.*, 2012). Os rendimentos globais obtidos foram de 1-17%.

Tendo em vista os pouquíssimos estudos devotados à obtenção de porfirina assimétrica *meso*- $\alpha,\beta$ -insaturada e o aparecimento da porfirina assimétrica **33** como um dos produtos das reações conduzidas no presente trabalho, foi realizada a otimização da síntese desta porfirina. Várias condições foram testadas para atingir este objetivo, como é mostrado na Tabela 4.



Tabela 4- Condições experimentais para a síntese da glicoporfirina 33

Entrada	CHCl <sub>2</sub> (mL)	CHCl <sub>3</sub> (mL)	TFA (mmol/L)	BF <sub>3</sub> O(Et) <sub>2</sub> (mmol/L)	Tempo de conden- sação (min)	T Conden- sação (°C)	SeO <sub>2</sub> (mmol)	DDQ (mmol)	Atmosfera	Tempo de oxidação (min)	T Oxida- ção (°C)	Rend. Glico 32 (%)	Rend. Glico 33 (%)
1	210,5	-	4,8	-	180	t.a.	15	-	Ar atmosférico	60	t.a.	4	6
2	210,5	-	4,8	-	180	t.a.	20	-	Ar atmosférico	60	t.a.	6	8
3	210,5	-	-	9,5	270	0	15	-	Ar atmosférico	60	t.a.	2	1
4	210,5	-	4,8	-	180	t.a.	15	-	Ar atmosférico	60	60	2	3
5	210,5	-	4,8	-	180	t.a.	15	-	Ar atmosférico	15	60	12	3
6	-	210,5	4,8	-	180	t.a.	15	-	Ar atmosférico	60	t.a.	13	6
7	210,5	-	4,8	-	180	t.a.	15	-	Argônio	60	t.a.	14	4
8	10	-	-	7	30	60	1,5	-	Ar atmosférico	60	t.a.	15	7
9	10	-	-	7	30	60	-	2,1	Ar atmosférico	180	t.a.	12	traços
10	210,5	-	4,8	-	180	t.a.	-	2,1	Ar atmosférico	180	t.a.	11	traços

A primeira condição em que se quantificou a glicoporfirina assimétrica (**33**) foi na melhor condição (LÓ *et al.*, 2011, com modificações) encontrada para a síntese da glicoporfirina **32** (Tabela 3, entrada 6). O rendimento obtido foi menor que 1%.

O passo seguinte consistiu na utilização do agente oxidante DDQ (Tabela 4, entrada 10, de acordo com Casiraghi *et al* 1994). Nesta condição observou-se a formação da glicoporfirina **32** com rendimento de 11% e traços da glicoporfirina **33** que somente puderam ser detectados por espectrometria de massas. Dessa maneira, pode-se concluir que a formação da dupla conjugada ao anel porfirínico independe do agente oxidante utilizado. No entanto, o SeO<sub>2</sub> favoreceu a formação da  $\alpha,\beta$ -insaturação.

Com intuito de aumentar o rendimento da glicoporfirina **33**, prosseguiu-se o estudo utilizando o método de Casiraghi *et al* (1994), porém alterou-se o agente oxidante DDQ pelo SeO<sub>2</sub> (Tabela 4, entrada 1). Nestas condições obteve-se um rendimento de 4% e 6% para as glicoporfirinas **32** e **33**, respectivamente. É importante ressaltar que os métodos de Casiraghi *et. al.* (1994) e o definido na Tabela 3 (entrada 6) diferem quanto ao tipo de catalisador, oxidante, concentração dos reagentes e o tempo de condensação e oxidação.

A reação seguinte correspondeu na alteração da quantidade de SeO<sub>2</sub> adicionada ao meio reacional (Tabela 4, entradas 1 e 2). Observou-se que 20 mmol de SeO<sub>2</sub> levou ao um pequeno acréscimo no rendimento (de ambas, glicoporfirina **32** e **33**) em comparação com os 15 mmol de SeO<sub>2</sub> utilizados anteriormente. No entanto, este aumento não foi considerado significativo.

Outras variáveis foram investigadas por meio da alteração das quantidades de ácido catalisador, tempo e a temperatura de condensação (Tabela 4, entrada 3). Notou-se que o aumento no tempo de condensação para 270 minutos a 0°C acarretou no decréscimo do rendimento.

Avaliou-se o efeito do tempo e temperatura de oxidação no meio reacional (Tabela 4, entradas 4 e 5). Neste estudo observou-se que tanto o aumento da temperatura quanto a redução do tempo de oxidação levaram ao decréscimo do rendimento para 3 %, em ambos os casos, para a síntese da glicoporfirina **33**.

De acordo com a entrada 6 (Tabela 4) a modificação do solvente da reação não alterou o rendimento do composto **33**, porém ocorreu um acréscimo no rendimento da glicoporfirina **32** de 4% para 13%.

Comparou-se o efeito da atmosfera inerte na reação (Tabela 4, entrada 7), onde a utilização de gás argônio acarretou uma diminuição do rendimento da glicoporfirina **33** com concomitante aumento no rendimento do composto **32**. Este resultado sugere que a atmosfera inerte previne a degradação do dipirrometano, como visto anteriormente, explicando o acréscimo no rendimento da glicoporfirina **32**.

Observou-se que a adição de 1,5 mmol de  $\text{SeO}_2$  ao meio reacional levou ao aumento do rendimento da porfirina **32** (Tabela 4, entrada 8).

Outra situação investigada foi utilizar a condição descrita na Tabela 4, entrada 9, porém ao invés de usar o  $\text{SeO}_2$  foi usado DDQ como agente oxidante. Nestas condições foi formado a glicoporfirina **32** com um rendimento de 12% e traços da glicoporfirina **33**.

A estrutura da porfirina  $\alpha,\beta$ -insaturada **33** indica que a formação da dupla ligação está associada a eliminação do grupo acetiloxi que ocupa o carbono diretamente ligado ao anel porfirínico, bem como de seu carbono adjacente (C-1' e C-2'). Esta eliminação está provavelmente ligada às características químicas do grupo protetor. Para demonstrar esta possibilidade, os glicodipirrometanos **25**, **26** e **27**, os quais apresentavam outros grupos protetores (FIGURA 13) foram utilizados na tentativa de síntese de porfirinas análogas às porfirinas **32** e **33** (porfirinas **38a**, **38b**, **39** e **40** – Esquema 24).

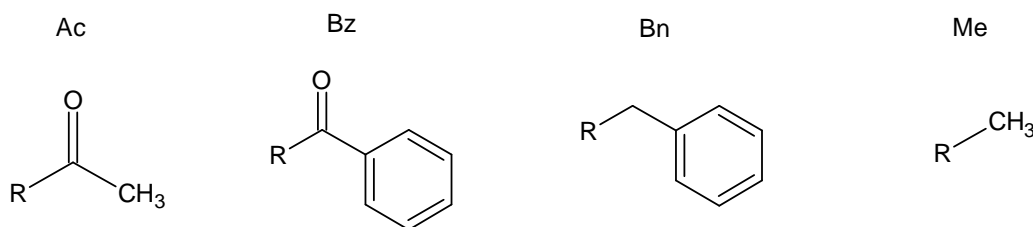
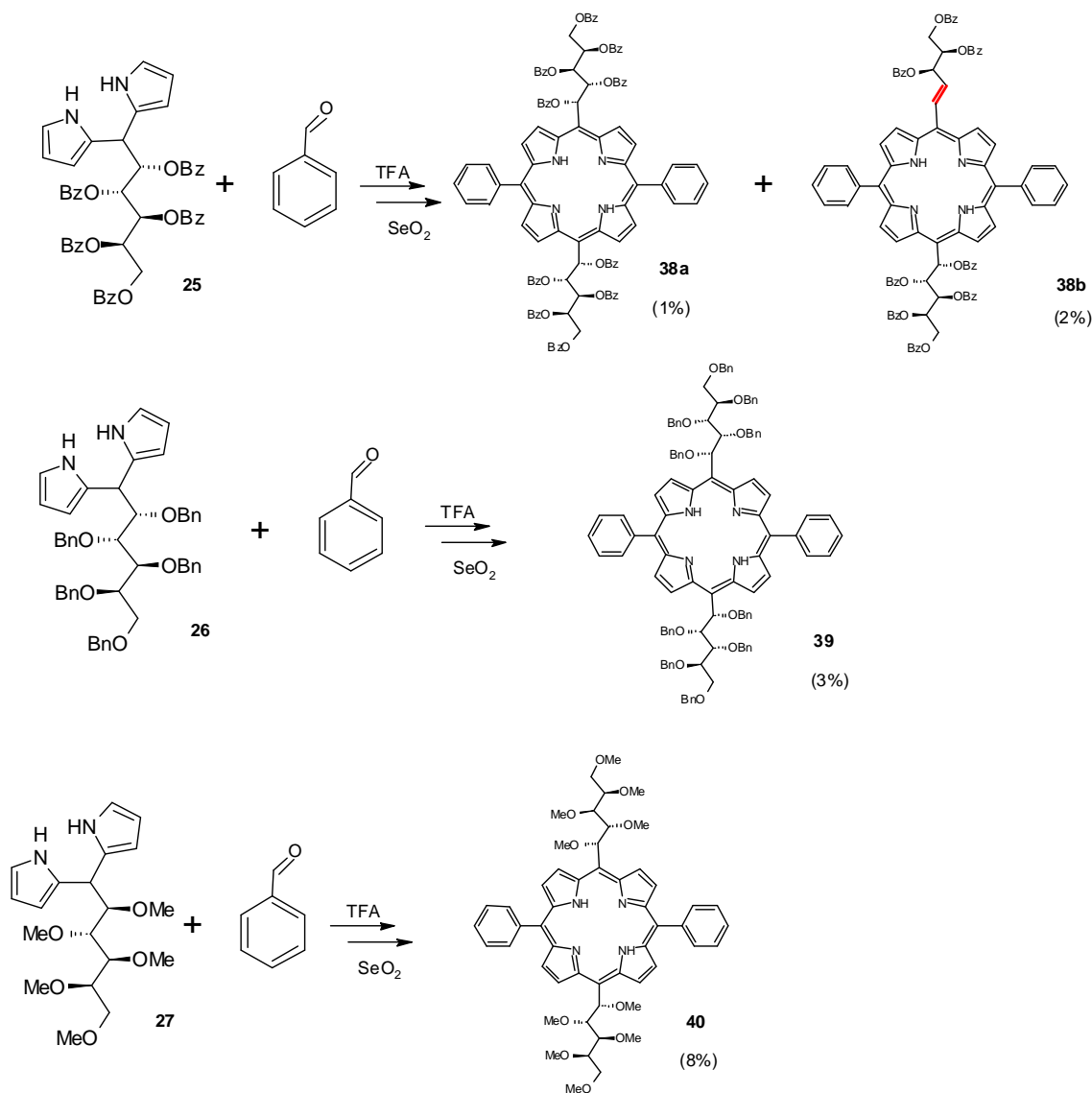


Figura 13: Estruturas químicas dos diferentes grupos protetores utilizados na síntese de porfirinas análogas às porfirinas **32** e **33**.

As reações que utilizaram os glicodipirrometanos com as hidroxilas protegidas dos grupos protetores acetil e benzoil (**24** e **25**) resultaram na formação da dupla conjugada ao anel porfirínico. Ao contrário, os compostos benzilado e metilado (**26** e

**27**), originaram somente porfirinas análogas à porfina **33**, sem a presença da insaturação (Esquema 24). Portanto, a formação da  $\alpha,\beta$ -insaturação ocorreu somente na presença de grupos protetores formadores de ligação do tipo éster com as hidroxilas.

Outras conclusões são demonstradas na seção 4.4, onde se comparou as glicoporfirinas obtidas a partir de diferentes glicodirrometanos (**28**, **29**, **30** e **31**) obtidos neste trabalho.



Esquema 24: Síntese das glicoporfirinas **38a**, **38b**, **39** e **40** utilizando TFA como catalisador.

#### 4.3 APLICAÇÃO DO PROCESSO DE SÍNTESE OTIMIZADO PARA A OBTENÇÃO DE GLICOPORFIRINAS A PARTIR DOS DIPIRROMETANOS **24**, **28**, **29**, **30** E **31**.

A melhor condição encontrada para a obtenção das glicoporfirinas **32** e **33** (Tabela 3, entrada 6 e Tabela 4, entrada 1) foi aplicada aos diferentes glicodipirrometanos sintetizados neste trabalho (Esquemas 25, 26, 27 e 30).

As glicoporfirinas *trans*-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> **36a** e **37**, derivadas dos dissacarídeos, alcançaram rendimentos menores (8%) quando comparados com as glicoporfirinas derivadas dos monossacarídeos (13-25%) (Esquema 25 e 26). Porém, os rendimentos entre estes compostos foram próximos (4-12%) nas condições que utilizaram TFA como catalisador (Esquema 27 e 28).

Foi possível estabelecer os requisitos básicos para a formação da dupla ligação, com a perda de dois grupos O-acetil, ao confrontar os resultados obtidos nos Esquemas 25 e 26. Baseando-se na formação das glicoporfirinas **33**, **34b**, **35b**, **36b** a partir dos dipirrometanos C-1-desoxialditol, e na não formação da glicoporfirina  $\alpha,\beta$ -insaturada a partir dipirrometano C-glicosídeo **31**, concluiu-se que é necessária a presença de dois grupos O-acetil vicinais, em C1' e C2', para a ocorrência da dupla ligação.

Os dipirrometanos **24** e **29** são diastereoisômeros, epímeros em relação ao C-2 da porção açúcar (derivados da glucose e manose, respectivamente). As reações que utilizaram estes dois compostos acarretaram na formação de glicoporfirinas  $\alpha,\beta$ -insaturadas, para ambos os casos. Portanto, esta diferença de estereoquímica não compromete a formação dos produtos insaturados. Ainda, por meio da comparação dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H dos compostos **33** e **35b**, foi possível verificar uma constante de acoplamento de 15 Hz ( $J_{1',2'}$ ) em relação aos dois hidrogênios ligados ao carbonos envolvidos na dupla ligação formada. Este resultado indica uma configuração *trans* para esta dupla ligação. Dessa maneira, conclui-se que a diferença na estereoquímica dos dipirrometanos **24** e **29** não interfere na isomeria geométrica da porfirina formada (FIGURA 14).

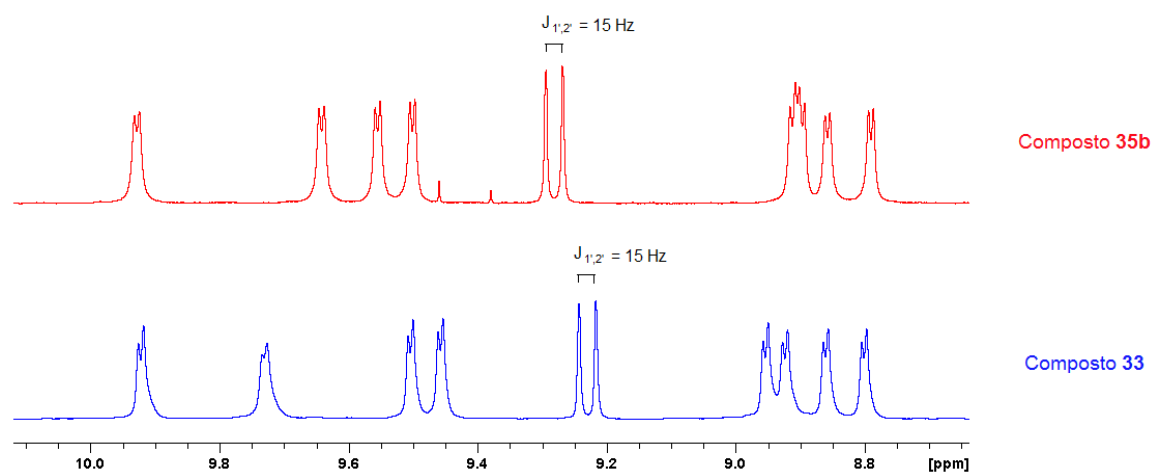
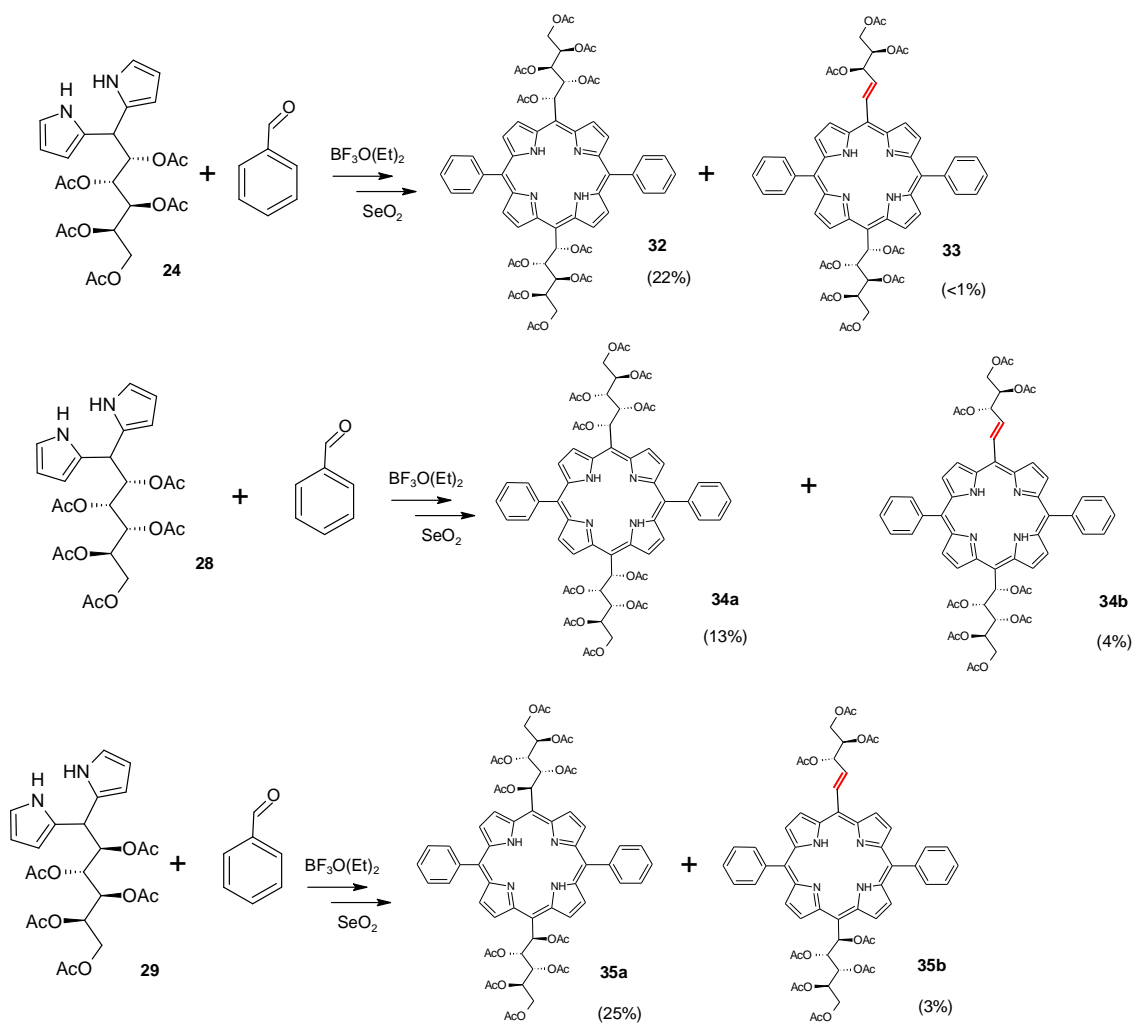
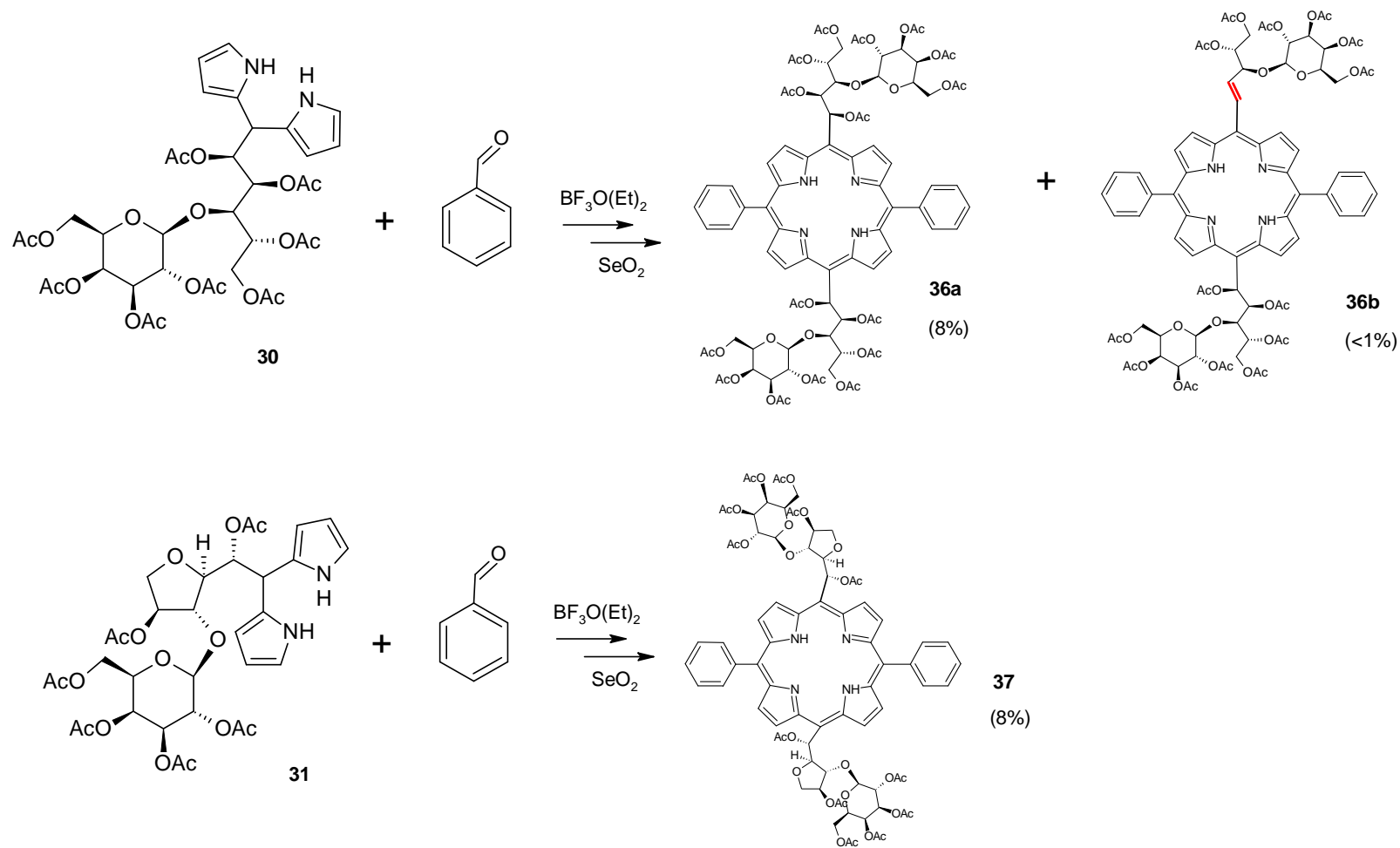


Figura 14: Comparação dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos compostos **33** e **35b**.

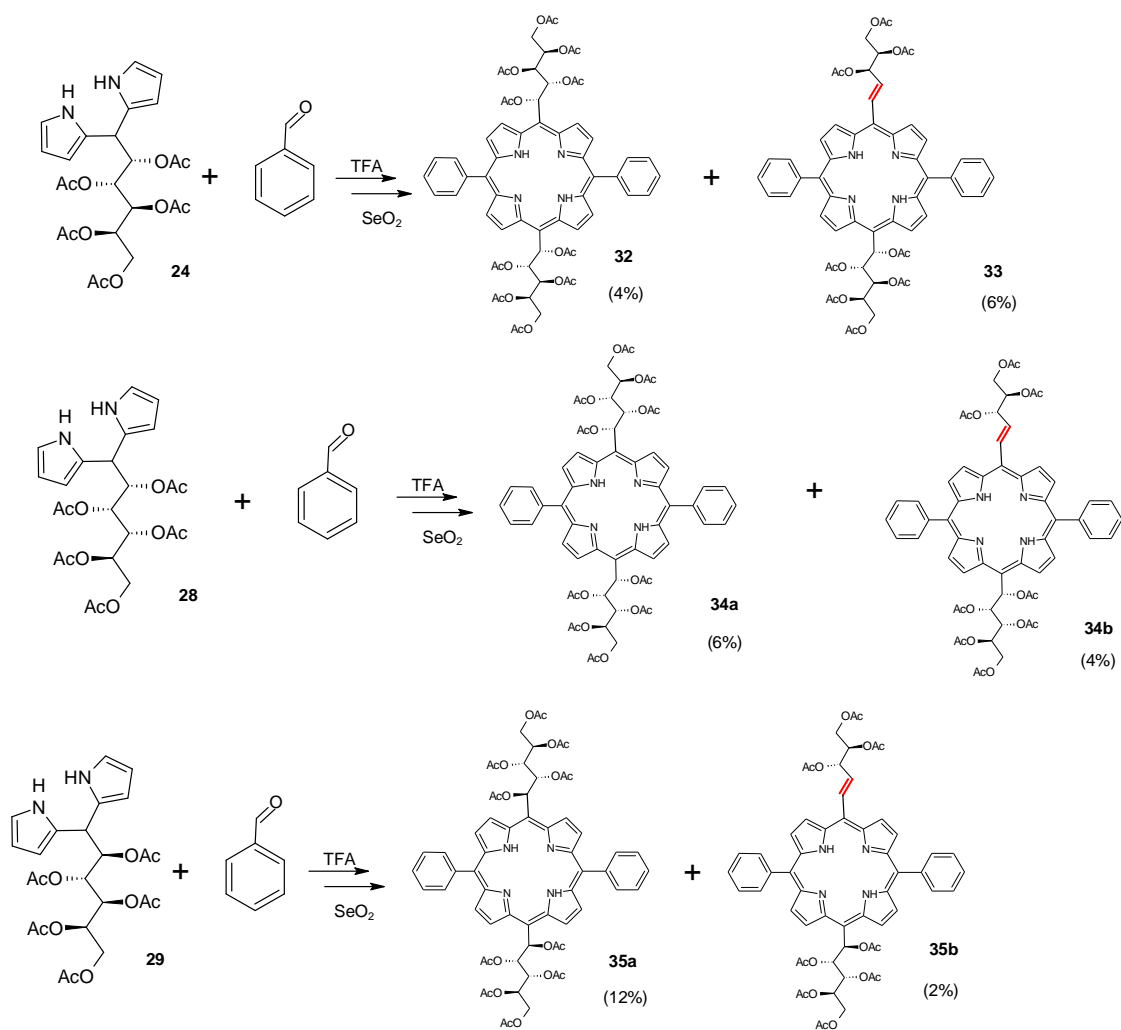


Esquema 25– Síntese de glicoporfirinas **32**, **33**, **34a**, **34b**, **35a** e **35b** utilizando  $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$  como catalisador.

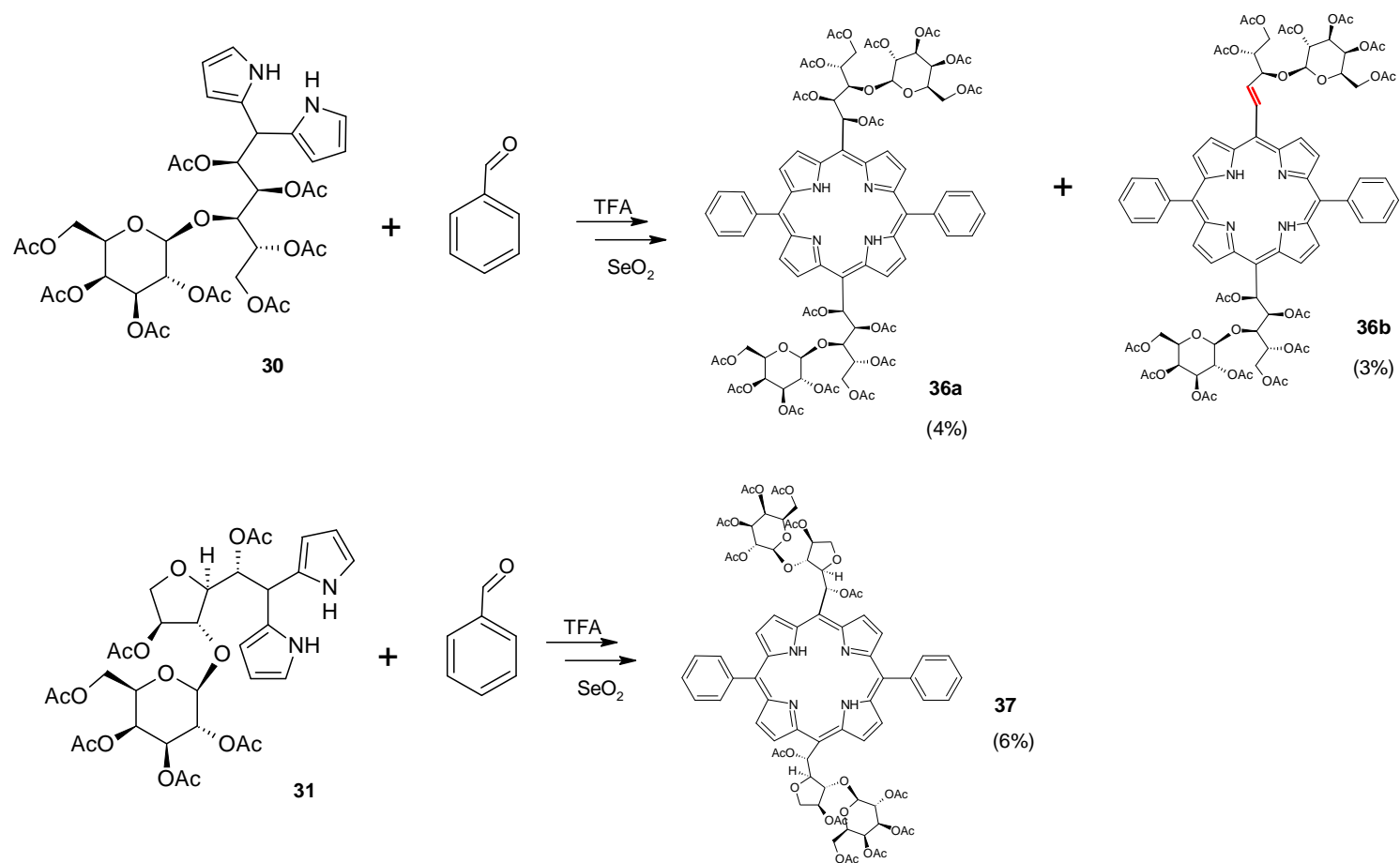


Esquema 26- Síntese de glicoporfirinas **36a**, **36b** e **37** utilizando  $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$  como catalisador.





Esquema 27- Síntese de glicoporfirinas **32**, **33**, **34a**, **34b**, **35a** e **35b** utilizando TFA como catalisador.



Esquema 28- Síntese de glicoporfirinas **36a**, **36b** e **37** utilizando TFA como catalisador.

A Figura 15 mostra um espectro na região do UV-visível típico de porfirinas, o qual é caracterizado pela presença de uma banda característica, em cerca de 400 nm, denominada banda Soret. Ainda, outras bandas satélites, de menor intensidade e em maiores comprimentos de onda, denominadas bandas Q, são também características de compostos macrocíclicos tetrapirrólicos.

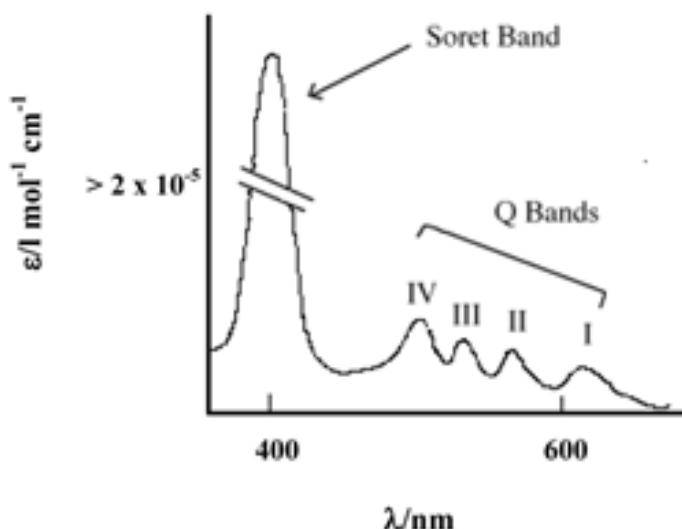


Figura 15: Espectro de UV-vis característico de porfirinas

Comparando-se os espectros de UV-vis das glicoporfirinas **32**, **34a**, **35a**, **36a**, **38a** aos espectros das glicoporfirinas insaturadas correspondentes (**33**, **34b**, **35b**, **36b** e **38b**), observa-se um deslocamento batocrômico das bandas Soret e Q. O deslocamento dessas bandas para regiões de comprimentos maiores, onde a luz apresenta maior penetração, acarreta na maior eficiência da terapia fotodinâmica (FIGURAS 16 e 17) (COSTA *et al.*, 2012).

As glicoporfirinas protegidas com o grupo acetila apresentaram também um deslocamento hipocrômico das bandas Soret, porém em algumas bandas Q apresentaram o deslocamento hiperocrômico. Em contrapartida, a glicoporfirina protegida com grupo benzoila mostrou um deslocamento hipocrômico tanto para a banda Soret como para banda Q (FIGURA 17).

As glicoporfirinas protegidas com grupo acetila apresentaram vantagens em relação aos outros grupos protetores avaliados, tais como: facilidade na purificação do produto por cromatografia em coluna e na caracterização por RMN. Ainda, devido ao fato do grupo O-acetila poder ser clivado por esterases do metabolismo humano,

moléculas possuindo esta função podem ter o papel de pró-fármacos de uma molécula ativa hidroxilada. Assim, nestes e em outros casos, moléculas contendo o grupo O-acetila podem ser consideradas biocompatíveis, o que possibilita que as mesmas sejam utilizadas diretamente em ensaios biológicos.

Alguns trabalhos compararam as atividades biológicas de porfirinas acetiladas e as formas não protegidas. As glicoporfirinas contendo a porção carboidrato acetilada apresentaram atividade frente as células HeLa (MIKATA *et. al*, 1998). No entanto, Sol e colaboradores (1998) observaram a fotoinativação de bactérias Gram-positivas ao utilizar porfirinas desprotegidas enquanto as glicoporfirinas protegidas com grupo acetila não apresentaram atividade.

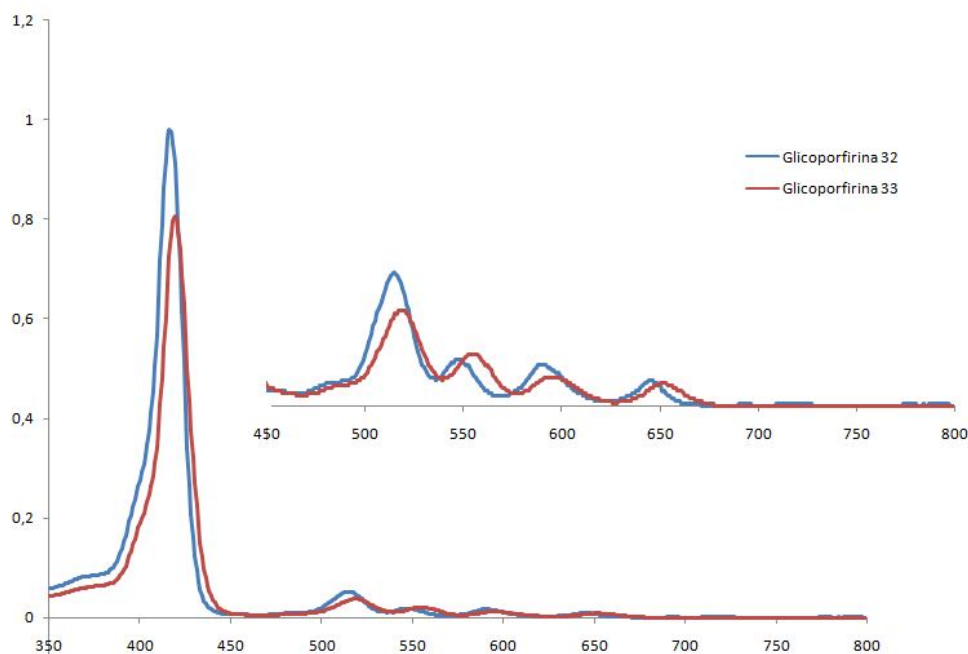


Figura 16: Comparação dos espectros de UV-vis dos compostos **32** e **33** ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

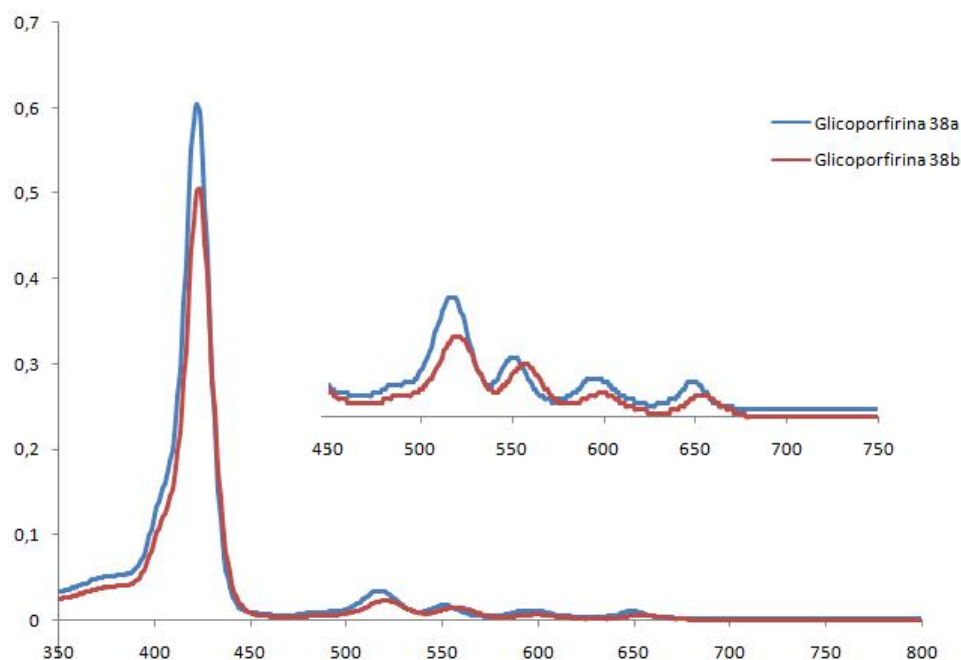


Figura 17: Comparação dos espectros de UV-vis dos compostos **38** e **38b** ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

No geral, o espectro do RMN  $^1\text{H}$  das glicoporfirinas sintetizadas no presente trabalho apresentaram hidrogênios na região de 10,5–8,5 ppm (H- $\beta$  e H- $\beta'$  pirrólicos), 8,5–7,0 ppm (anel aromático), 7,5–6,5 ppm (H-1' das porções açúcar), 5,0–3,0 ppm (outros hidrogênios das porções açúcar) e -1,0 a -2,9 ppm (NH). Os sinais gerados pela ressonância dos prótons centrais N-H surgem deslocados para campos mais altos ( $\delta$  entre -1 e -3 ppm) quando compara-se com sinal gerado pela ressonância dos prótons do TMS (zero arbitrário para medidas de RMN em soluções não aquosas). Isto se dá devido à forte blindagem que estes prótons sofrem por parte da densidade eletrônica que existe em torno do macrociclo. Foi verificado o efeito contrário no exterior do macrociclo, onde a corrente eletrônica do anel desprotege os prótons *meso* e prótons  $\beta$ -pirrólicos, surgindo sinais correspondentes à ressonância destes em desvios químicos entre  $\delta$  7 e 10 ppm. Desse modo, a mesma corrente eletrônica que protege os prótons no interior do macrociclo, desprotege os prótons externos do macrociclo.

Como um exemplo, a Figura 18 mostra o espectro expandido (e assinalamentos) de RMN  $^1\text{H}$  do composto **32** em  $\text{CDCl}_3$  a 30°C. O assinalamento de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  completo do composto **32**, iniciou-se com o auxílio do mapa de correlação  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  (HSQC). Através deste experimento determinou-se a correlação

entre o C-5' e os hidrogênios diretamente ligados, H-5'a e H-5'b (FIGURA 20). A partir desta informação foi possível correlacionar os deslocamentos químicos dos núcleos de  $^1\text{H}$  vicinais acoplados (H-4', H-3', H-2', H-1') através do COSY (FIGURA 19). Determinado o assinalamento dos hidrogênios, foi possível determinar os outros carbonos através da reutilização do HSQC.

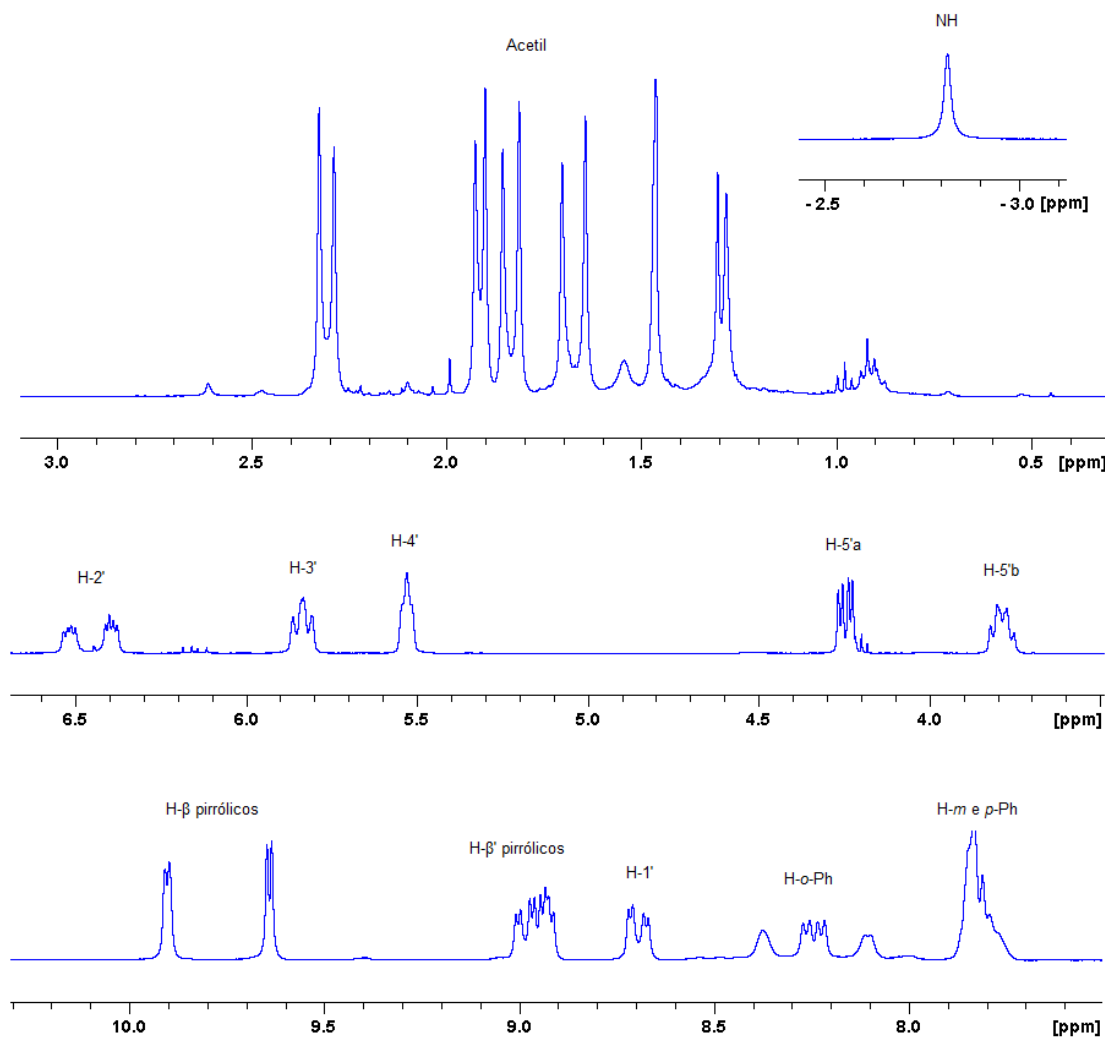


Figura 18: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  expandido do composto **32** em  $\text{CDCl}_3$  a  $30^\circ\text{C}$ .

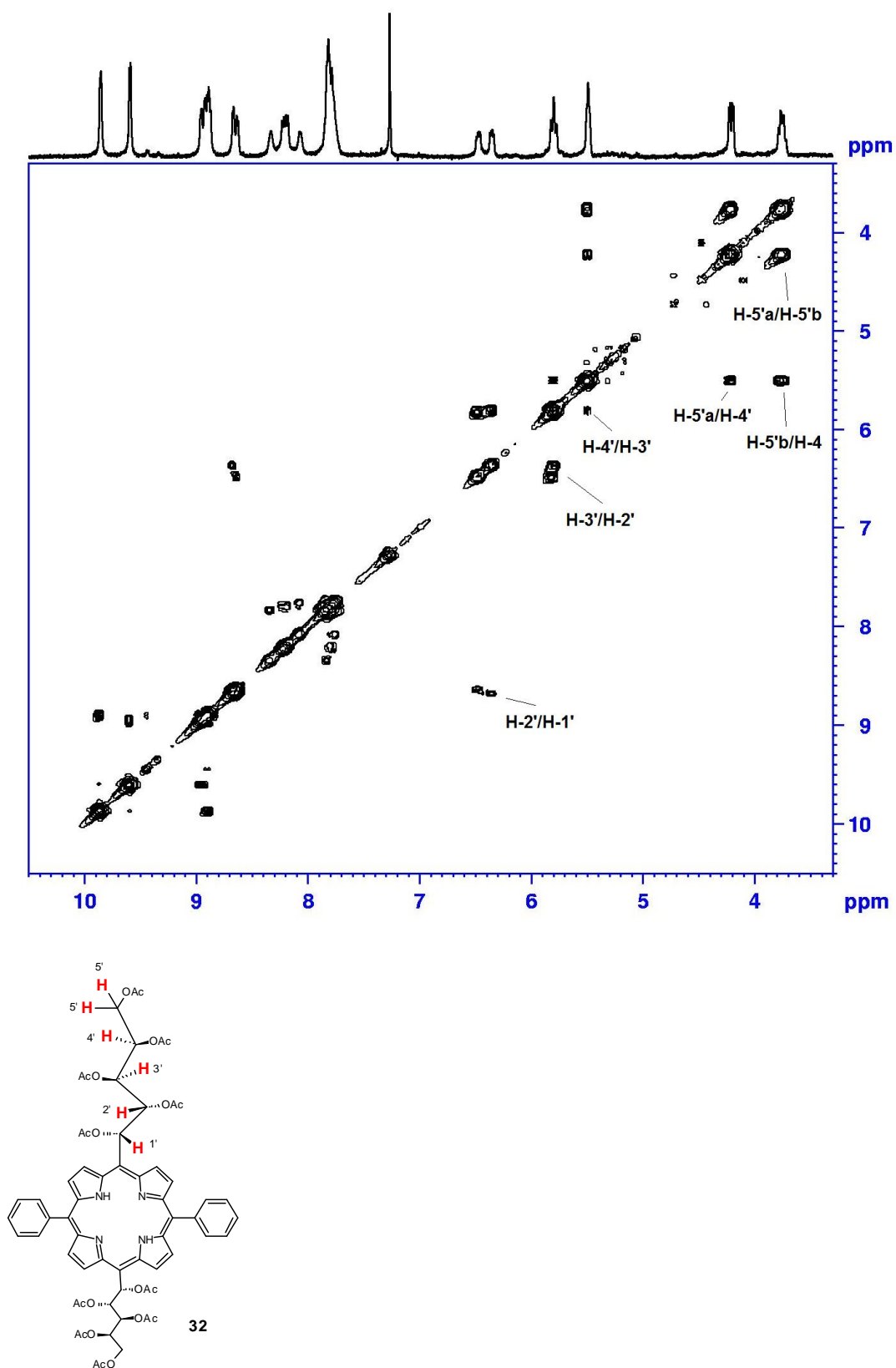


Figura 19 – Mapa de correlação direta  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  do composto **32** (em  $\text{CDCl}_3$  a  $30^\circ\text{C}$ ).

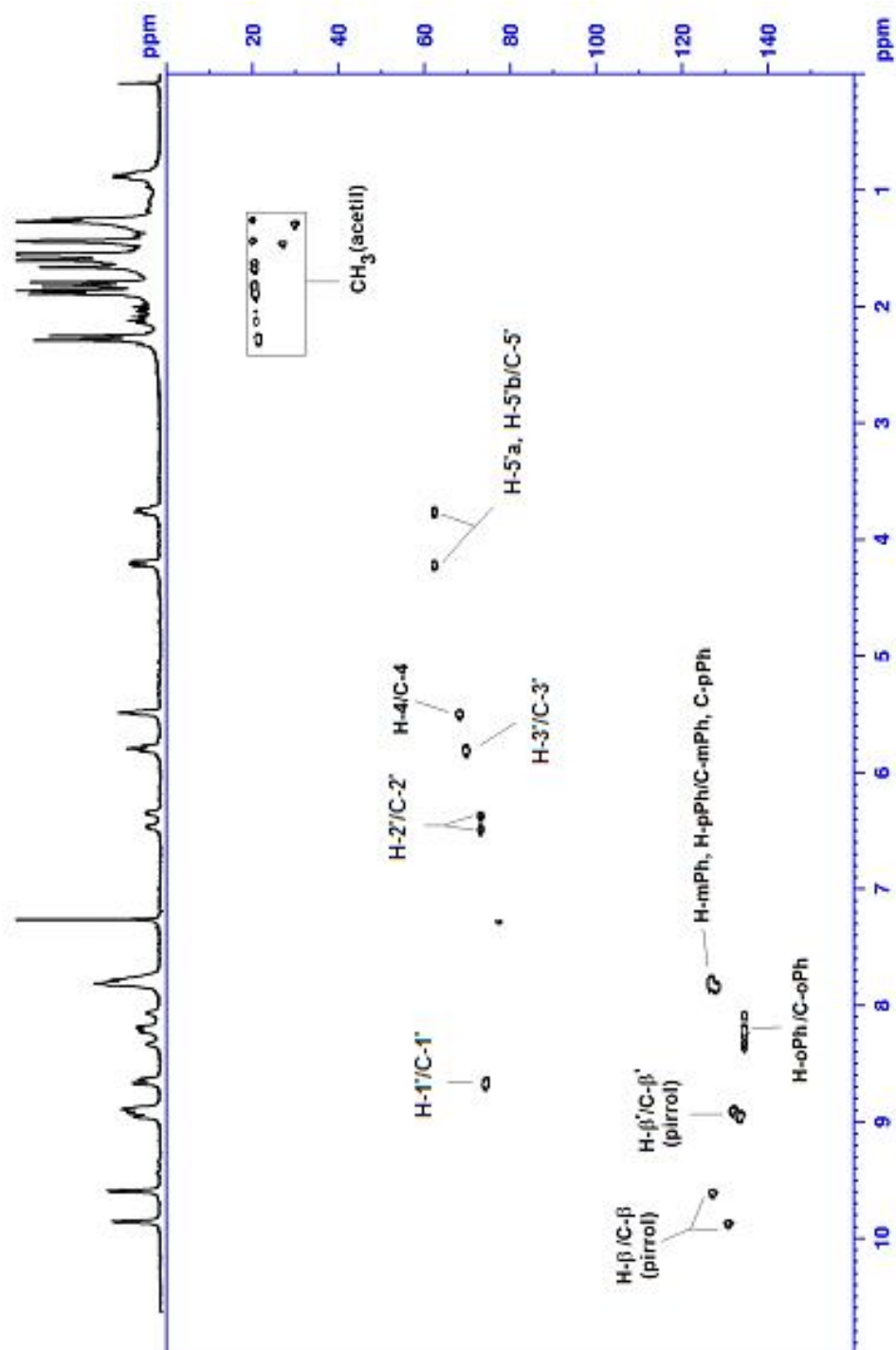


Figura 20- Mapa de correlação direta  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  do composto **32** (em  $\text{CDCl}_3$  a 30  $^\circ\text{C}$ ).



Para correlacionar o número de sinais do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  com a estrutura da porfirina **32**, foi importante a observação da simetria da mesma. Esta porfirina apresenta, em princípio, uma simetria do tipo  $C_2$ . Este tipo de simetria é característica de porfirinas  $A_2B_2$ , pois ao girar-se a molécula em  $180^\circ$ , tem-se a representação da molécula original (FIGURA 21).

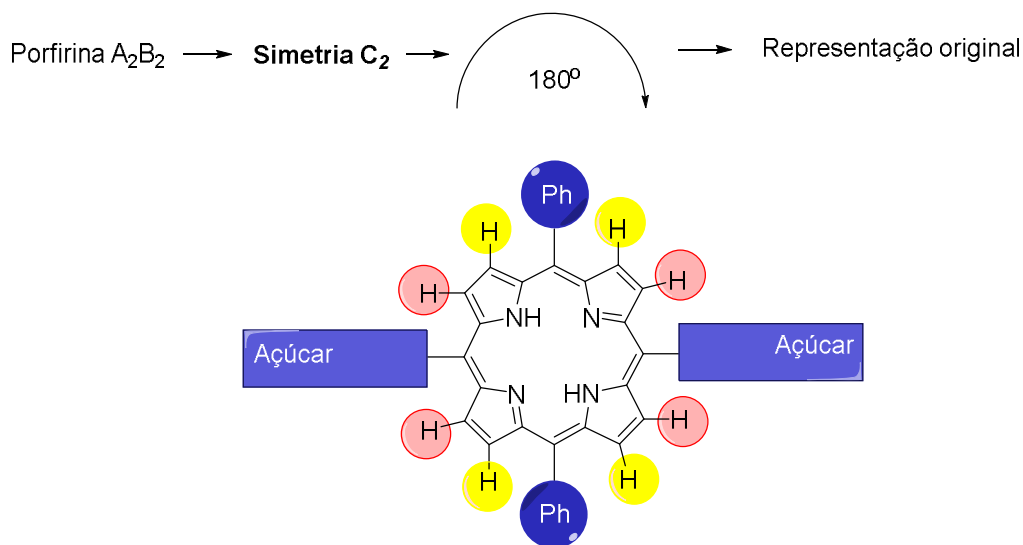


Figura 21: Representação esquemática da porfirina **32**, destacando-se sua simetria  $C_2$ .

Baseado nesta simetria, os hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos próximo às porções açúcar (destacados em vermelho – FIGURA 21) deveriam apresentar o mesmo deslocamento químico. Da mesma maneira, os hidrogênios  $\beta'$ -pirrólicos (próximos ao fenil, destacados em amarelo) também deveriam ser coincidentes. Desta forma, a região do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  referentes aos oito hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos deveriam fornecer apenas 2 dupletos (cada duplete representando quatro hidrogênios). Entretanto, a região espectral de hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos resultante de um experimento de RMN de  $^1\text{H}$  obtido em  $\text{CDCl}_3$  (a  $30^\circ\text{C}$ ) indicou a presença de 6 dupletos diferentes, sendo que alguns dos sinais apresentaram-se parcialmente sobrepostos (FIGURA 22).

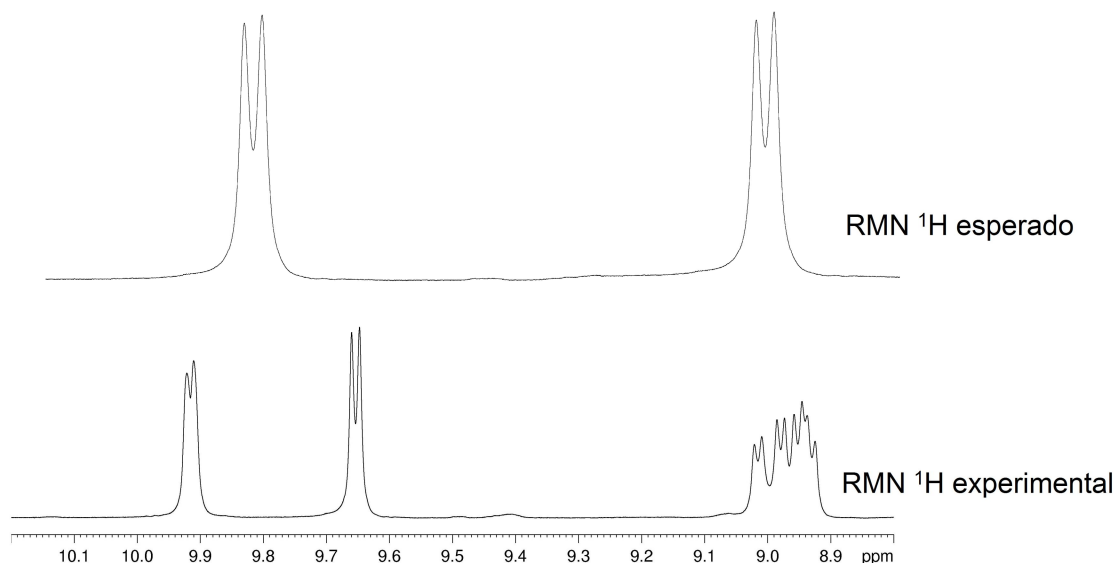


Figura 22: Região dos hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **32**. O espectro esperado, de acordo com a simetria  $\text{C}_2$  da molécula, é mostrado acima. O espectro experimental (em  $\text{CDCl}_3$  a  $30^\circ\text{C}$ ) é mostrado abaixo.

Para estudar este fenômeno, recorreu-se ao experimento de NOE, o qual proporciona a observação de interações entre hidrogênios espacialmente próximos, não necessariamente vicinais. Ao irradiar os H-1' referentes às porções açúcar (sinal mostrado em fase negativa, 8,65 ppm – FIGURA 23) os hidrogênios espacialmente próximos (H- $\beta$  pirrólicos, voltados para o açúcar), geram sinais em fase positiva (9,86 e 9,60 ppm). Com isso, foi possível assinalar quais os sinais correspondiam aos hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos próximos às porções açúcar, e por eliminação os hidrogênios  $\beta'$ -pirrólicos próximos aos grupos fenil. Além disso, o aparecimento de mais de um sinal em consequência deste experimento indicou a presença de um equilíbrio de confôrmeros.

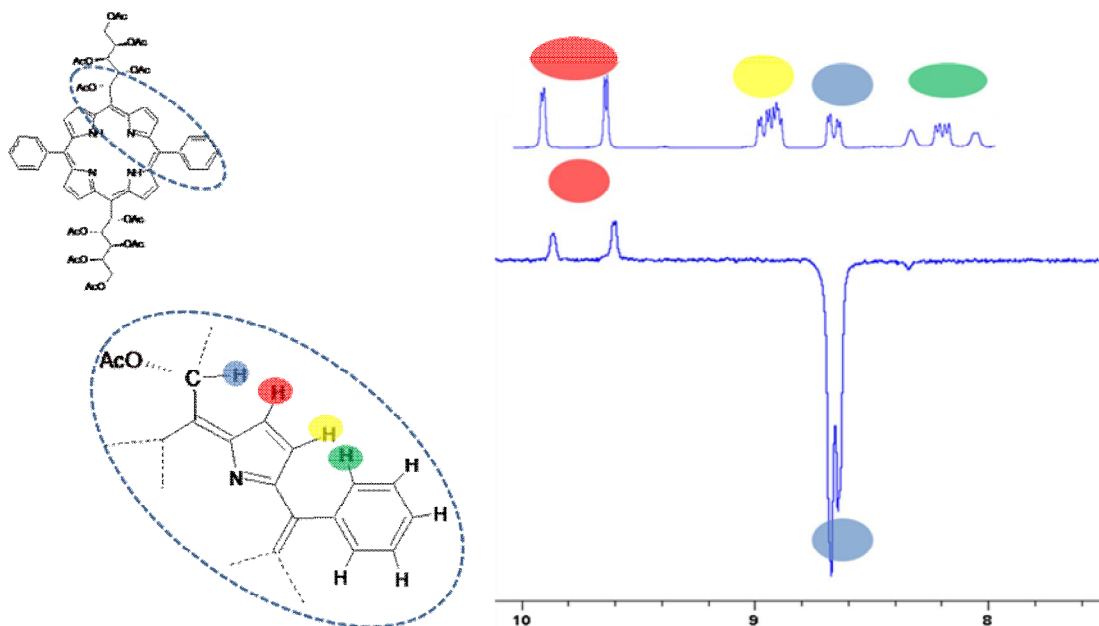


Figura 23: Experimento de RMN NOE monodimensional da porfirina **32** (em  $\text{CDCl}_3$  a  $30^\circ\text{C}$ ). Neste caso, o hidrogênio assinalado em 8,65 ppm (H-1' da porção alditol) foi seletivamente irradiado, aparecendo em fase negativa no espectro.

Para entender qual tipo de equilíbrio de confôrmeros estava ocorrendo, recorreu-se ao trabalho publicado por Casiraghi e colaboradores. Este artigo, o qual foi publicado no ano de 1994, é o único na literatura que aborda aspectos conformacionais de moléculas similares (mas não idênticas) às obtidas no presente trabalho. Sabe-se que a presença de grandes substituintes no macrociclo pode acarretar na distorção do anel porfirínico. Esta distorção leva à possibilidade do anel porfirínico apresentar duas diferentes conformações: *saddle* e *ruffled*. Ainda, em solução, podem existir mais de uma forma tanto de conformação *saddle* quanto de *ruffled*. Na conformação *saddle*, cada par de carbonos- $\beta$  pirrólicos estão alternadamente alocados acima e abaixo do plano imposto pelos quatro carbonos *meso*. Já na conformação *ruffled*, cada um dos carbonos- $\beta$  pirrólicos estão alternadamente dispostos acima e abaixo do plano da porfirina, enquanto os quatro carbonos *meso* tem a mesma disposição dos carbonos- $\beta$  pirrólicos vizinhos. A Figura 24 mostra uma imagem generalizada das conformações *saddle* e *ruffled* (CASIRAGHI *et. al.*, 1994).

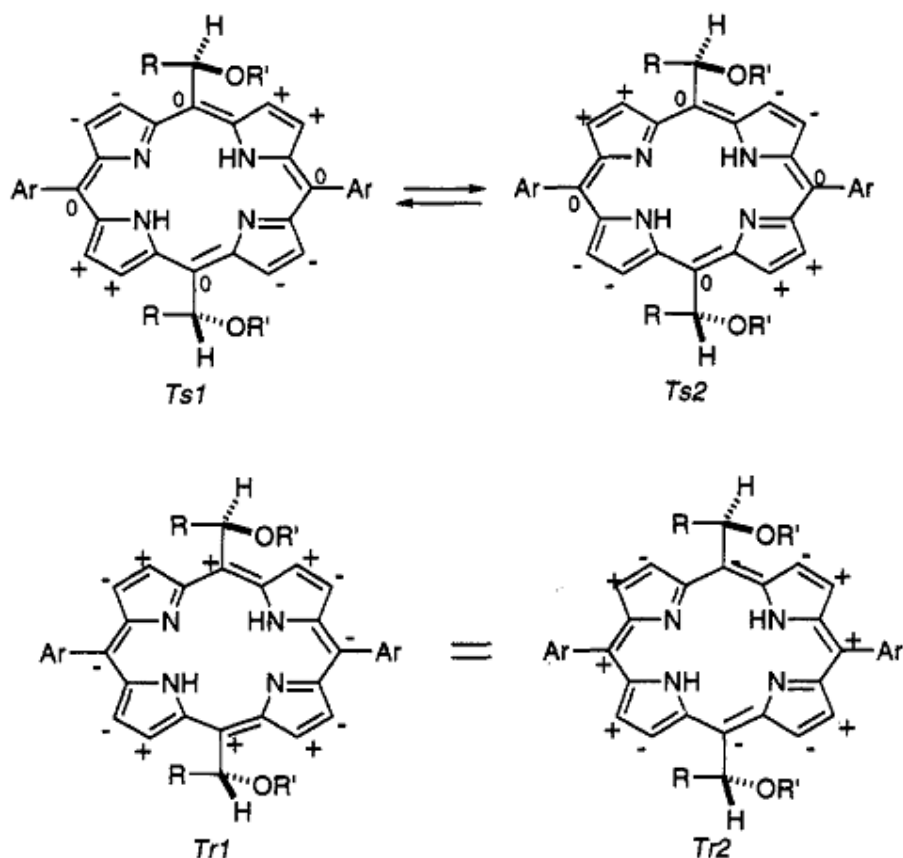


Figura 24: Distorção do anel porfirínico nas conformações *saddle* (*Ts1* e *Ts2*) e *ruffled* (*Tr1* e *Tr2*). O posicionamento dos átomos de carbono da porfirina em relação ao plano são mostradas como + (acima do plano), - (abaixo do plano), e 0 (no plano) (CASIRAGHI *et al.*, 1994).

No trabalho acima citado, os autores concluíram que o padrão anormal dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  dos hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos exibidos pelas porfirinas estudadas naquela ocasião (similares à porfirina **32**, obtida no presente trabalho) seriam compatíveis com uma mistura de dois confômeros do tipo *saddle* (representações *Ts1* e *Ts2* – FIGURA 24).

Ainda, deve-se considerar que porfirinas que possuem grupos alquílicos volumosos ligados às posições *meso* podem apresentar atropoisomerismo. Atropoisomerismo é atribuído a um tipo de estereoisomerismo característico de sistemas onde a rotação livre em torno de uma ligação simples é impedida, produzindo uma barreira energética suficientemente elevada, de modo a permitir o isolamento ou simplesmente a detecção dos diferentes rotâmeros, chamados

atropoisômeros. Porfirinas  $A_2B_2$  que possuem ligantes associados a grupos volumosos ocupando posições *meso* opostas (posições 5 e 15 ou posições 10 e 20) podem apresentar dois tipos de atropoisômeros:  $\alpha\alpha$  ou  $\alpha\beta$  (FIGURA 25).

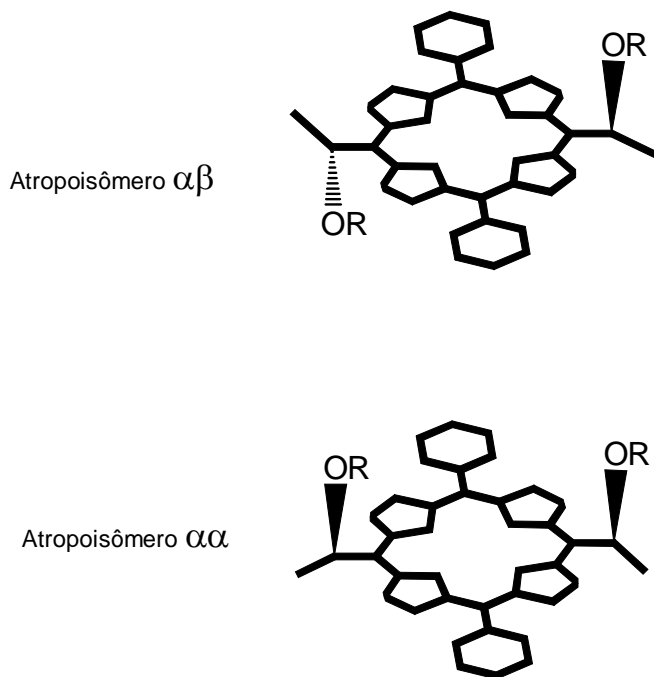


Figura 25: Representação esquemática dos possíveis atropoisômeros de uma porfirina  $A_2B_2$  contendo grupos volumosos nas posições *meso* opostas do anel porfirínico: atropoisômero  $\alpha\beta$  e atropoisômero  $\alpha\alpha$ .

Em relação ao atropisomerismo, Casiraghi *et al.* postularam que, devido à questões estéricas e energéticas, o atropoisômero  $\alpha\beta$  seria o produto de reação majoritário a partir de arilaldeídos e dipirrometanos alditóis contendo grupos protetores volumosos. Assim, com base nas discussões acima apresentadas, existe a possibilidade da porfirina **32**, e outras porfirinas obtidas no presente trabalho, possuírem rotamerismo restritivo do tipo  $\alpha\beta$  e apresentarem-se como confômeros interconversíveis do tipo *saddle*, quando solubilizadas em  $CDCl_3$ . Entretanto, deve-se considerar as diferenças estruturais entre as porfirinas estudadas no presente trabalho e aquelas apresentadas por Casiraghi e colaboradores. Além disso, os autores citados fizeram várias suposições, sem respaldo experimental, para chegar às conclusões aqui discutidas.

Com o intuito de gerar informações adicionais às obtidas na literatura, a porfirina **32** foi submetida à um *screening* através da realização de experimento de RMN  $^1\text{H}$  variando-se solventes deuterados utilizado. Estes experimentos possibilitaram a observação de outros tipos de desdobramentos dos sinais hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos. Neste caso, o DMSO- $\text{d}_6$  foi o solvente que melhor apresentou o desdobramento dos sinais, uma vez que houve sobreposição dos sinais correspondentes aos H- $\beta$  pirrólicos e H- $\beta'$  pirrólicos ao utilizar como solvente  $\text{CDCl}_3$ , acetona- $\text{d}_6$  e  $\text{CD}_3\text{CN}$  (FIGURA 26).

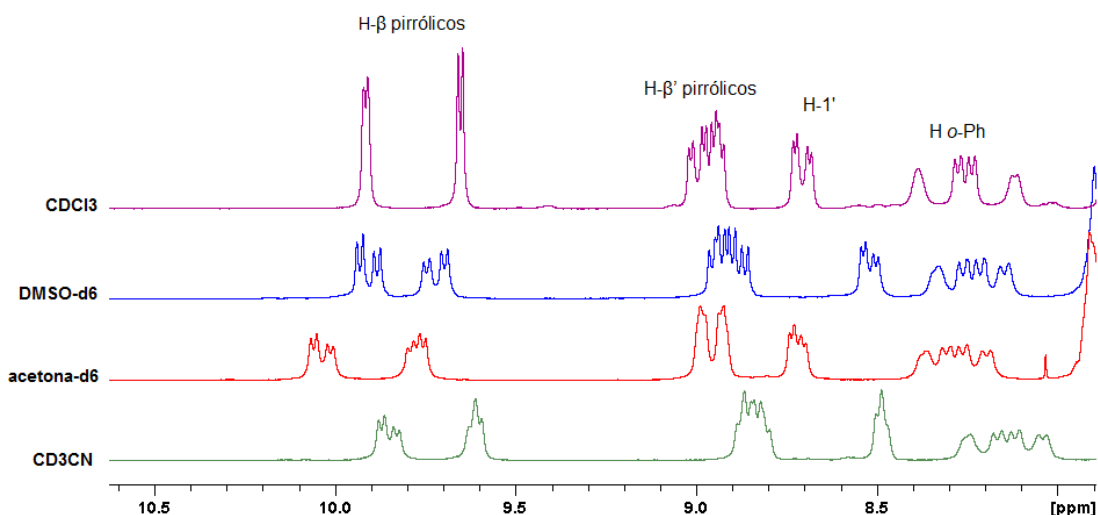


Figura 26: Espectro expandido de RMN de  $^1\text{H}$  (região de hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos, parte dos hidrogênios aromáticos e H-1' das porções açúcar) da porfirina **32**, a  $30^\circ\text{C}$ , em diferentes solventes.

O DMSO- $\text{d}_6$  foi então escolhido como solvente para alguns experimentos adicionais que pudessem trazer mais informações sobre os possíveis confôrmeros das glicoporfirinas sintetizadas neste trabalho. Uma vantagem que este solvente apresenta sobre o  $\text{CDCl}_3$  é seu alto ponto de ebulição, o que possibilita a realização de experimentos em temperaturas relativamente elevadas. Uma das formas de se estudar espécies em equilíbrio em solução corresponde à realização de experimentos de RMN diferentes temperaturas. Os experimentos onde se varia temperatura nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  têm sido muito utilizados para estudar conformações não-planares de porfirinas. A Figura 27 apresenta a região do H- $\beta$  pirrólicos (próximos às porções açúcar), em diferentes temperaturas, das

glicoporfirinas sintetizadas neste trabalho. Com o aumento da temperatura do experimento, ocorria uma tendência de simplificação dos sinais, e em alguns casos pode se observar o surgimento somente de um duplete a partir do conjunto de sinais originais. De modo geral, todos os casos estudados tendiam a coalescência dos sinais dos hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos à um duplete. Devido às limitações experimentais, não foi possível observar a coalescência para todos os casos. Este comportamento espectral em função da temperatura é tipicamente relacionado à presença de confômeros em solução. Em temperaturas mais baixas, a intercoversão entre as espécies acontece de maneira lenta o suficiente, de modo a permitir que as mesmas sejam detectadas como entidades distintas pela análise de RMN. Com o aumento da temperatura, e consequente aumento da energia cinética no meio, a velocidade de interconversão aumenta. A partir de uma certa velocidade de interconversão (ou seja, de uma certa temperatura) a técnica analítica em questão já não é mais capaz de distinguir os diferentes confômeros. Nesta situação, a resultante dos deslocamentos químicos das espécies em questão é que são visualizadas no espectro.

Com estes resultados, foi possível primeiramente constatar que confômeros interconversíveis podem ser observados não somente em  $\text{CDCl}_3$ , mas também em  $\text{DMSO-d}_6$  (e aparentemente nos outros solventes testados – FIGURA 26). Adicionalmente, conclui-se que dependendo do açúcar ligado na porfirina, a temperatura de coalescência seria diferente. Isto indica que a velocidade de interconversão dos diferentes confômeros é diferente para cada caso, ou seja esta propriedade é dependente do açúcar ligado à posição *meso*. A Figura 27 indica que a temperatura de coalescência para os sinais dos H- $\beta$  pirrólicos aumenta aproximadamente da seguinte forma: **37 < 34a < 32 ~ 35a ~ 36a**.

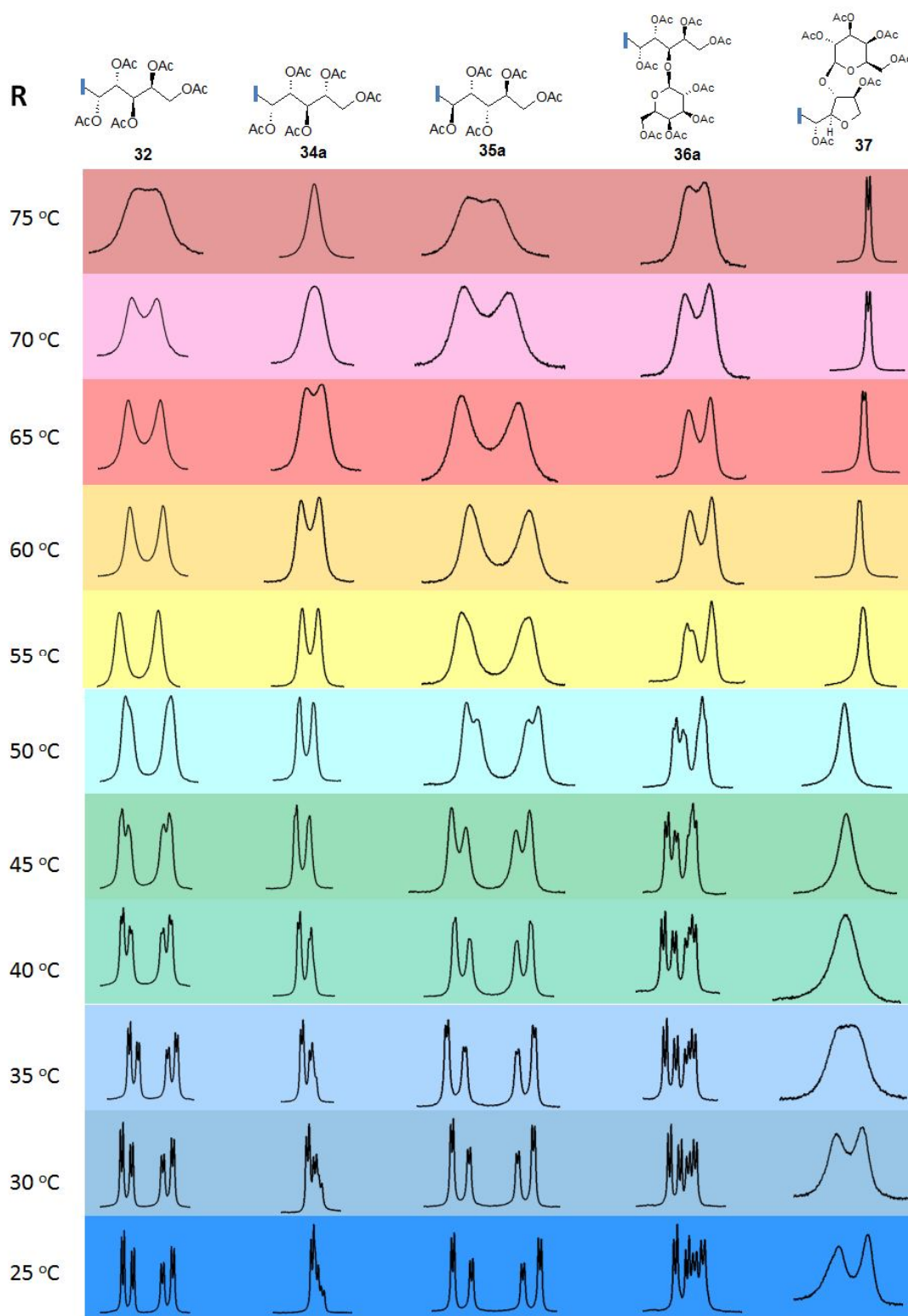


Figura 27: Espectro expandido de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ) da região dos H- $\beta$  pirrólicos em diferentes temperaturas.



A Figura 28 mostra um detalhamento do experimento mostrado na Figura 27. Neste caso, somente os espectros da porfirina **32** são avaliados, exibindo-se uma maior faixa espectral. A Figura 28 indica que a 25 °C, em DMSO-d<sub>6</sub>, além dos sinais dos hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos, é possível visualizar claramente os desdobramentos dos sinais referentes aos hidrogênios H-1', H-2' e H-3' das porções açúcar, e *orto*-fenil. Em contrapartida, os hidrogênios mais distantes do macrociclo (H-4', H-5'a e H-5'b das porções açúcar, e *para*- e *meta*-fenil) não apresentam desdobramentos notáveis. Este fato pode corroborar com a hipótese que o motivo da presença dos diferentes confôrmeros interconversíveis seria a distorção do anel porfirínico, uma vez que somente o ambiente químico especialmente à ele associado sofre discrepâncias significativas para cada confôrmero.

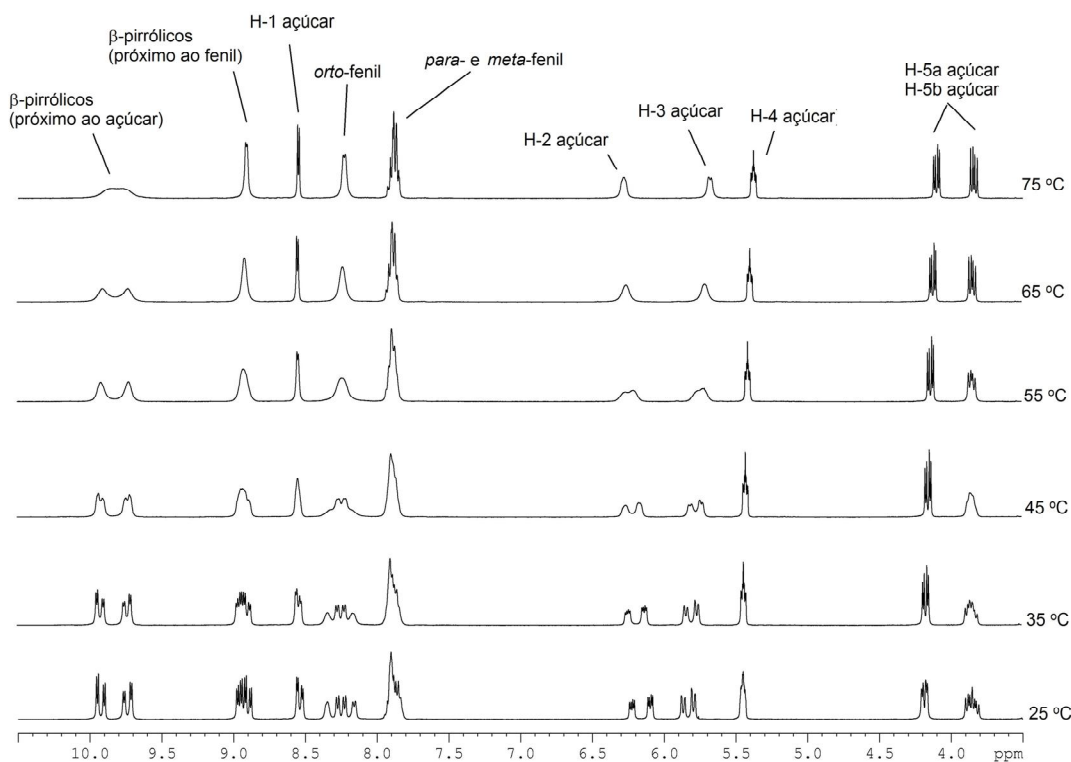


Figura 28: Espectro expandido de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO-d<sub>6</sub>) das regiões de H- $\beta$  e H- $\beta'$  pirrólicas, H-fenil e H-porções açúcar da porfirina **32** em diferentes temperaturas.

Com o aumento da temperatura, todos os sinais duplicados (ou quadruplicados) de **32** tendem a ser simplificados. Na temperatura de 75 °C, o

espectro de RMN  $^1\text{H}$  da porfirina **32** passa a ter características compatíveis com a simetria inicialmente prevista para essa molécula, ou seja, simetria  $\text{C}_2$ .

Uma forma de tentar compreender aspectos conformacionais de um sistema molecular pouco flexível compreende o estudo de suas constantes de acoplamento, as quais podem ser obtidas através do estudo do RMN de  $^1\text{H}$ . A Figura 29A mostra que os quatro sinais correspondentes aos hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos (próximos às porções açúcar) apresentaram integrações relativas de 1,0 para cada um dos dois sinais de maior intensidade, e 0,8 para os dois sinais de menor intensidade. Quanto as constantes de acoplamento, o par de dupletos (um mais intenso e outro menos intenso) localizados entre 10,0 e 9,85 ppm (Figura 29A) apresentam constantes de acoplamentos idênticas (5,16 Hz). Algo similar ocorre com o par seguinte de dupletos (entre 9,82 e 9,68 ppm), com ambos apresentando constante de acoplamento de 5,26 Hz.

Já os sinais referentes aos H-1', H-2' e H-3' das porções açúcar (Figuras 29B e 29C), os quais encontram-se duplicados, apresentam integrações relativas de 1,0 e 8,0, considerando para cada par de sinais. Quanto as constantes de acoplamento, os sinais de intensidade idêntica apresentam valores complementares. Assim, para a integração relativa de 1,0 foram encontrados os seguintes valores:  $J_{\text{H-1}',\text{H-2}'} = 4,00$  Hz;  $J_{\text{H-2}',\text{H-3}'} = 9,17$  Hz e  $J_{\text{H-3}',\text{H-4}'} = 1,50$  Hz. Já para a integração relativa de 0,8 são observados  $J_{\text{H-1}',\text{H-2}'} = 4,40$  Hz;  $J_{\text{H-2}',\text{H-3}'} = 9,30$  Hz e  $J_{\text{H-3}',\text{H-4}'} = 1,75$  Hz.

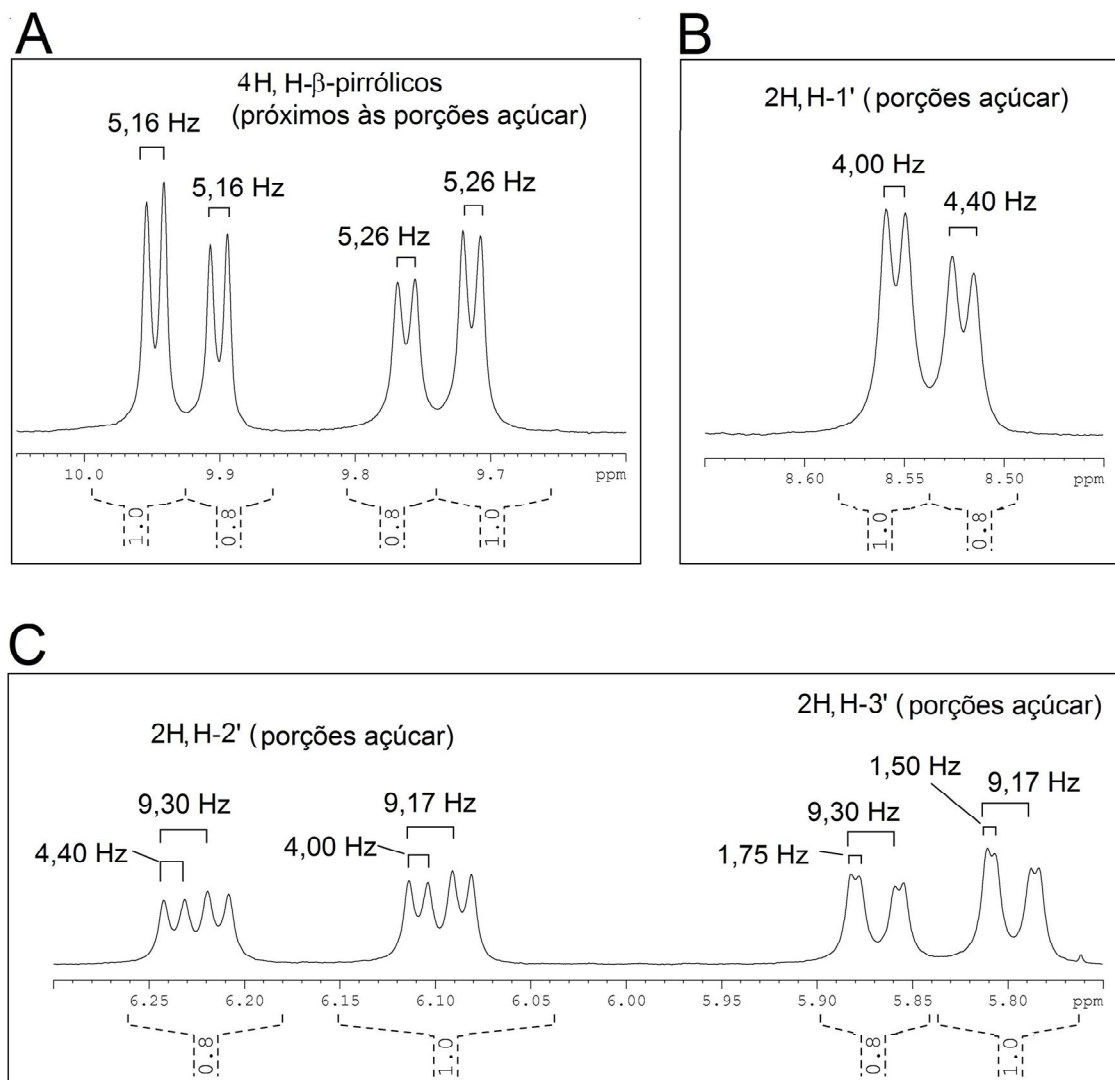


Figura 29: Secções do espectro expandido de RMN de  $^1\text{H}$  da porfirina **32** (25 °C, DMSO- $d_6$ ) das regiões de (A) H-β pirrólicos (próximos às porções açúcar), (B) H-1' das porções açúcar e (C) H-2' e H-3' das porções açúcar. São exibidas as integrações relativa dos sinais de hidrogênios (abaixo da escala) e as constantes de acoplamento (acima dos sinais).

As observações experimentais até aqui coletadas podem ser interpretadas da seguinte maneira:

- Os sinais desdobrados da porfirina **32**, provenientes dos experimentos de RMN  $^1\text{H}$  em DMSO- $d_6$  em temperaturas mais baixas (~ 25 °C), sofrem simplificação com o aumento da temperatura, mostrando a tendência de apresentarem-se como somente um sinal para cada hidrogênio em temperaturas mais elevadas (75 °C). Isso ocorre tanto para sinais em pares (H-açúcares), quanto para sinais em grupo de quatro ressonâncias (H-β-pirrólicos). Nestes casos, o sinal resultante originado a

partir coalescência dos sinais desdobrados, apresenta um novo deslocamento químico, não coincidente aos sinais originais em temperaturas mais baixas. Este fenômeno aponta para dois fatos importantes: (a) não há confômeros “resistentes” nas condições avaliadas, ou seja, a velocidade de interconversão dos confômeros aumenta para todas as espécies presentes, levando a uma resultante com deslocamentos químicos disitintos; (b) todos os confômeros presentes no meio apresentam simetria  $C_2$ , fornecendo individualmente espectros assemelhados (em número de sinais) ao espectro resultante em temperaturas altas. Se essa constatação não fosse verdadeira, o espectro obtido e altas temperaturas jamais apresentaria número de sinais compatíveis com a simetria  $C_2$ .

- Assim, a análise do espectro obtido a 25 °C, em termos de número de sinais, somente pode originar uma conclusão: existem quatro confômeros detectáveis nestas condições. Esta conclusão deve-se principalmente a presença de quatro diferentes dupletes representando os hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos vizinhos às porções glicídicas. Uma vez que cada confômero apresenta simetria  $C_2$ , cada um destes deve originar somente um sinal para esta região.

- Entretanto, ao observar a região dos hidrogênios glicídicos, a única forma de acomodar a conclusão anterior consiste na coincidência de ambientes químicos (sobreposição de sinais) por parte da porção açúcar. Em outras palavras, a porção açúcar dá origem a somente dois padrões de assinalamentos, independente do fato do anel porfirínico dar origem a quatro padrões de assinalamento.

- Para acomodar as conclusões alcançadas até este ponto aos dados referentes à integração relativa dos sinais, deve considerar-se o seguinte: (a) os sinais das porções açúcar com integração relativa de 0,8 são resultados da combinação dos dois confômeros que apresentam integração de 0,8 na região de hidrogênios beta-pirrólicos próximos as porções açúcar; (b) a mesma relação ocorre para os sinais com integração relativa de 1,0. Assim as integrações obtidas na região beta-pirrólica são compatíveis com as integrações observadas na região de açúcar.

- Ainda, a observação da coalescência dos dois dupletes de 5,16 Hz em 55 °C (Figura 28 e 29A), indica que os dois confômeros referentes aos anéis porfirínicos possuindo 5,16 Hz (com intensidades relativa de 1,0 e 0,8), apresentam conformações próximas, diferindo principalmente em relação às suas porções

açúcar. O mesmo pode ser dito dos dois dupletos de 5,26 Hz, uma vez que estes apresentaram fenômenos idênticos aos dupletos de 5,16 Hz. A Figura 30 mostra uma representação esquemática dos quatro prováveis confôrmeros propostos.

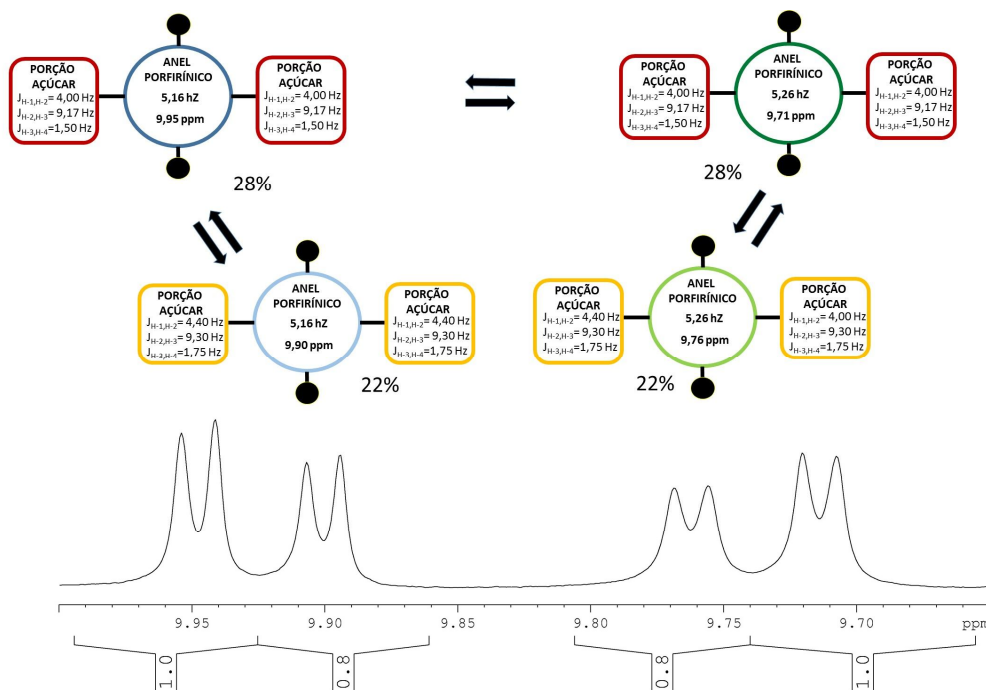


Figura 30: Representação esquemática dos quatro prováveis confôrmeros propostos para porfirina **32** em DMSO-d<sub>6</sub> a 25 °C. Os sinais de RMN <sup>1</sup>H dos H-β-pirrólicos vizinhos às porções açúcar são mostrados abaixo da representação esquemática.

Com relação à distorção do anel porfirínico, a constante de acoplamento apresentada pelos dupletos β-pirrólicos (~5 Hz) descarta uma conformação planar para o anel porfirínico do composto **32**. Porphirinas com conformação sabidamente planar apresentam constantes de acoplamento menores que 3 Hz para os hidrogênios β-pirrólicos, ou ainda, estes hidrogênios podem fornecer um singlete alargado (Ló, 2011). Assim, conclui-se que a porfirina **32** apresenta distorção do anel porfirínico, entretanto, não foram obtidos dados suficientes para a determinação do modo de distorção específico neste caso.

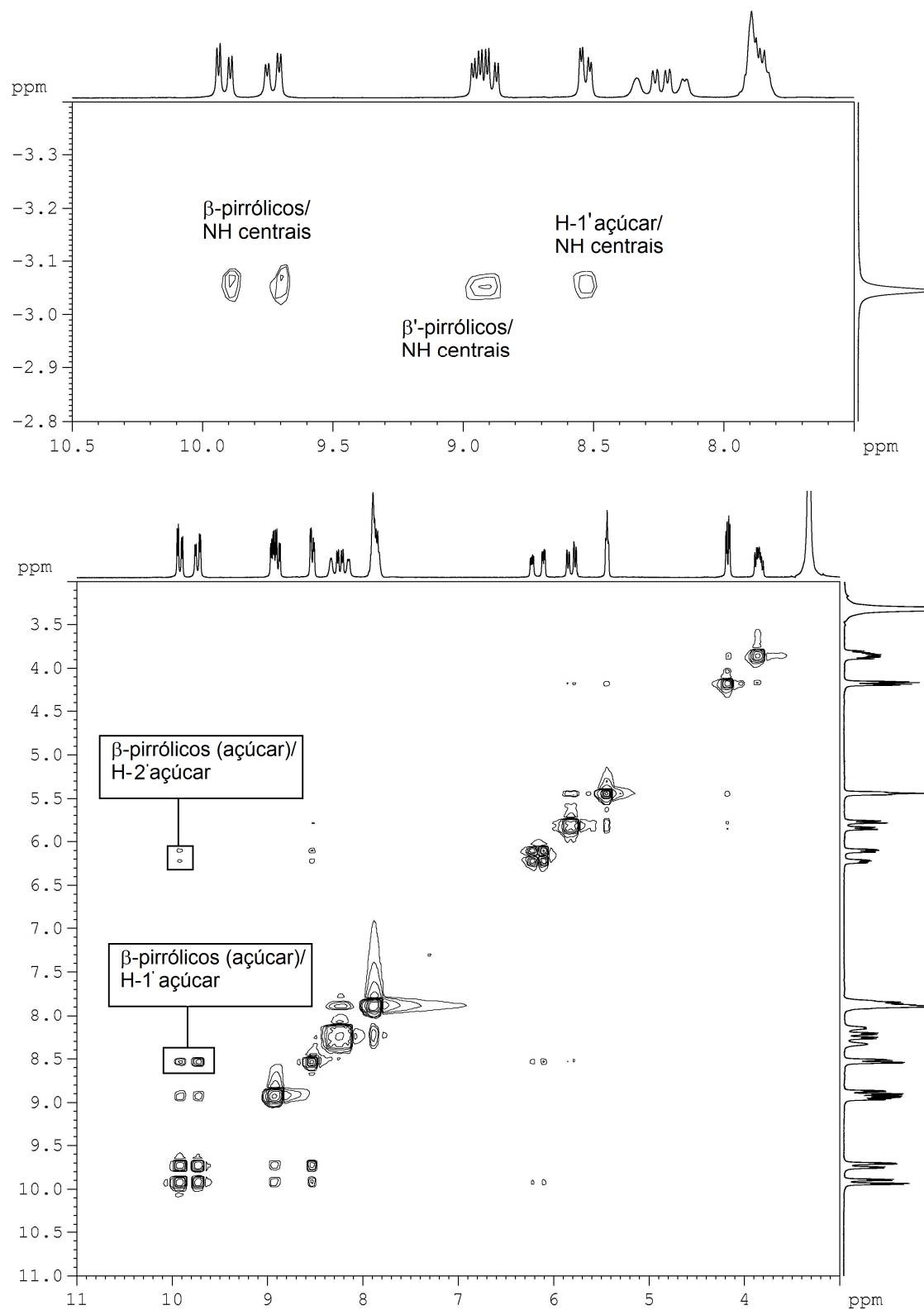


Figura 31- Mapas de correlação espacial <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (NOESY) do composto **32** em DMSO-d<sub>6</sub> a 25 °C.

A Figura 31 mostra o mapa de correlação de NOESY da porfirina **32**. Este experimento fornece basicamente a mesma informação do NOE monodimensional, apresentado na Figura 23. Entretanto, o NOESY permite a observação da totalidade das correlações entre hidrogênios espacialmente próximos presentes na molécula, os quais apresentam-se na forma de picos cruzados. No mapa de correlação de NOESY da porfirina **32**, foi possível observar as correlações espaciais esperadas entre os hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos e H-1' e H-2' das porções açúcar. Na região entre -3,2 e -2,9 ppm, onde aparece o singlete alargado correspondente aos dois NH centrais do macrociclo, foi possível observar a correlação espacial deste sinal tanto com os hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos quanto com os  $\beta'$ -pirrólicos. Considerando que a distância interatômica máxima que permite o surgimento de um pico cruzado neste experimento é de  $\sim 5$  angstroms, o fato de todos os hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos fornecerem correlações com os NH é explicado pelo tautomerismo que estes hidrogênios sofrem dentro do macrociclo (Figura 32).

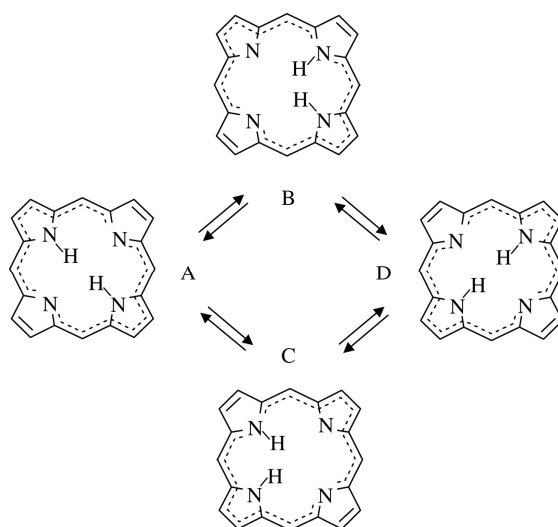
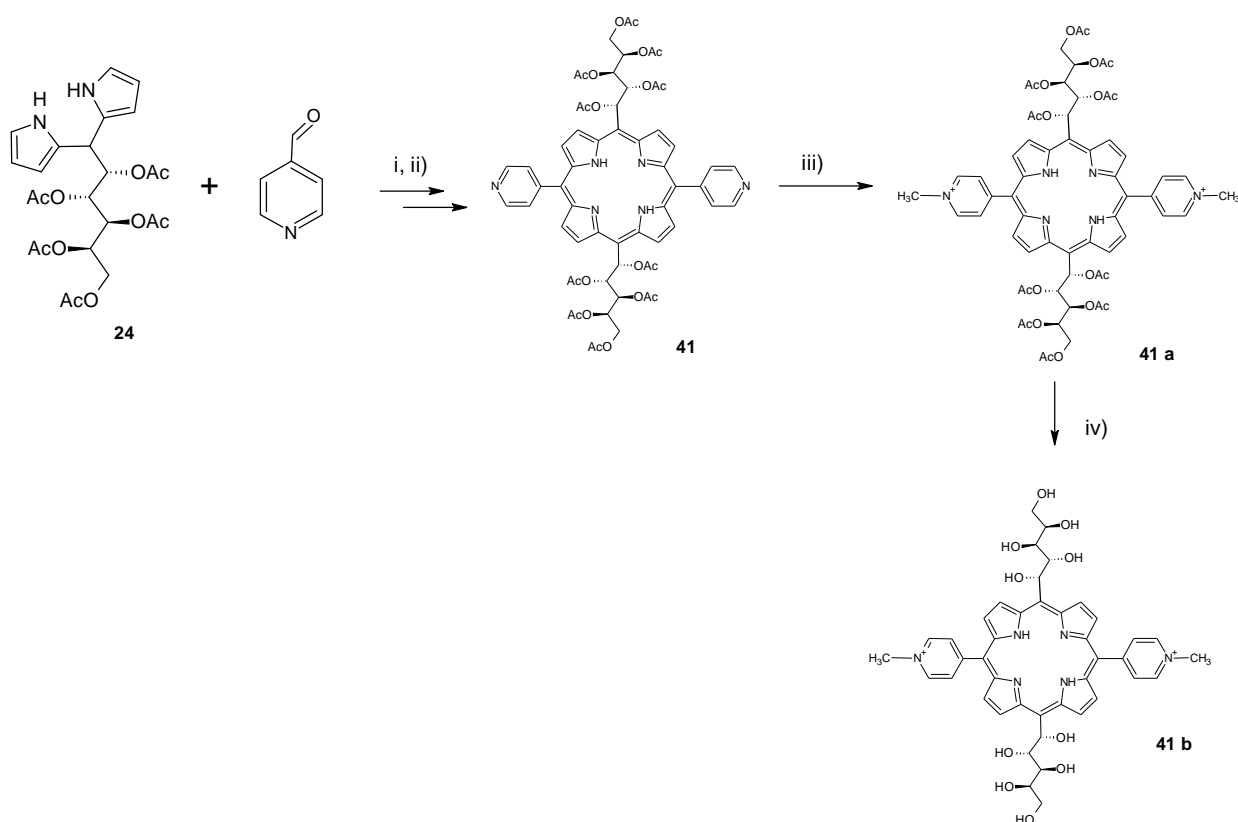


Figura 32- Formas tautoméricas do macrociclo porfirínico.

É importante notar que os H-1' das porções açúcar também estabelecem um pico cruzado com os NH do macrociclo, enquanto o mesmo não ocorre com os hidrogênios *orto*-fenílico. Esta observação pode dar suporte à um estudo computacional destes confôrmeros no futuro.

#### 4.4. SÍNTESE DE GLICOPORFIRINAS CATIÔNICAS

Sais quaternários solúveis em água derivados de piridil porfirinas têm sido estudados como fotossensibilizadores na PDT. Adicionalmente, dentro da PDI observa-se uma maior eficiência de fotoinativação de microorganismos proporcionada pelas porfirinas catiônicas em comparação às neutras. Desta forma, foi iniciado um estudo da síntese de glicoporfirinas catiônicas, primeiramente por meio da utilização do dipirrometano **24** e piridina-carboxialdeído como materiais iniciais. Assim, numa etapa posterior, a cationização do nitrogênio terciário do anel piridínico ligado às posições *meso* da porfirina obtida poderia ser realizada. O Esquema 29 mostra a obtenção da glicoporfirina catiônica passível de ser preparada pelo uso desta estratégia sintética.

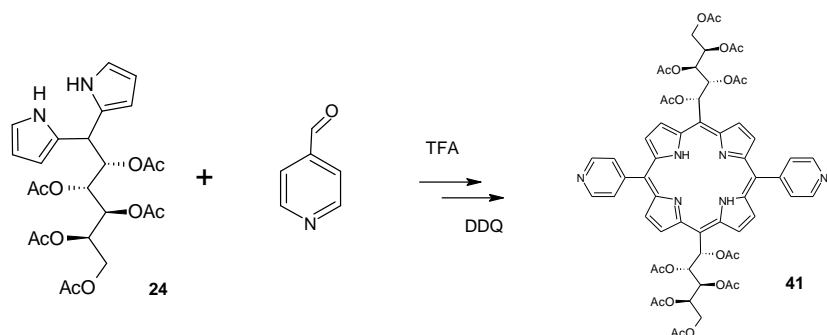


Esquema 29: Possibilidade de síntese de uma porfirina catiônica a partir do dipirrometano e 4-piridina carboxialdeído. Condições experimentais: i) TFA; ii) DDQ; iii)  $\text{CH}_3\text{I}$ ; iv)  $\text{NaOMe}$



A síntese de porfirinas contendo um, dois ou três grupos piridila é realizada quase que exclusivamente por meio de uma mistura de aldeído sob condições de Adler, seguindo-se de separações cromatográficas exaustivas (GRYKO; TASIOR, 2003). No entanto, neste trabalho a condição usada foi a de Lindsey, já que dipirrometanos são sensíveis a temperaturas elevadas.

Várias condições de reação foram testadas (Tabela 5) para a formação da glicoporfirina piridilada **41**.

Tabela 5: Condições experimentais para a síntese da porfirina **41**

Entrada	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (mL)	CH <sub>3</sub> CN (mL)	TFA (mmol)	MW	Tempo de condensação (min)	T condensação (°C)	Tempo de oxidação (min)	T oxidação (°C)	MW	Rendimento (%)
1	100	-	3	-	30	t.a.	60	t.a.	-	1,2
2	100	-	3	-	60	t.a.	60	t.a.	-	1
3	100	-	3	SIM	10	30	1	30	SIM	-
4	100	-	3	SIM	10	65	60	t.a.	-	2
5	100	-	11,75	-	30	t.a.	60	t.a.	-	0,4
6	-	95	11,75	-	60	t.a.	60	t.a.	-	1,2

Gryko e Tasior (2003) publicaram um artigo demonstrando a síntese de porfirinas *trans*-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> com unidades piridila. Esta condição foi aplicada para a reação entre o dipirrometano **24** e 4-piridinacarboxialdeído (Tabela 5, entrada 1). Nestas condições o rendimento foi de 1,2%. O aumento do tempo de condensação (60 min) alcançou um rendimento semelhante aquele obtido com 30 minutos (Tabela 5, entrada 1, 2).

É descrito na literatura o uso de micro-ondas (MW) na síntese de porfirinas com objetivo de diminuir o tempo de reação. Em alguns casos, o emprego de micro-ondas acarretou no aumento do rendimento dos compostos sintetizados (BOENS *et al.*, 2010; NASCIMENTO; GONSALVES; PINEIRO, 2010). Esta abordagem foi então avaliada tanto na etapa de condensação quanto na de oxidação da síntese de Lindsey. O baixo tempo de oxidação (1 min, MW, 30°C, 100W) pode ser a explicação da não formação da glicoporfirina **41** (Tabela 5, entrada 3). Avaliou-se o uso de micro-ondas apenas na etapa de condensação (65°C, 100W). Nesta situação, o rendimento obtido foi de 2%.

O maior problema com as sínteses de porfirinas contendo grupos amino ou piridila baseia-se na interação do catalisador ácido com o substrato. Nestes casos, a concentração real do ácido é desconhecida e é difícil de prever a quantidade de catalisador ácido necessário para que a reação prossiga de forma eficaz (GRYKO; TASIOR, 2003). Investigou-se uma condição em que se utilizava uma quantidade maior de catalisador no meio de reação (Tabela 5, entrada 5). O rendimento alcançado foi de 0,4%.

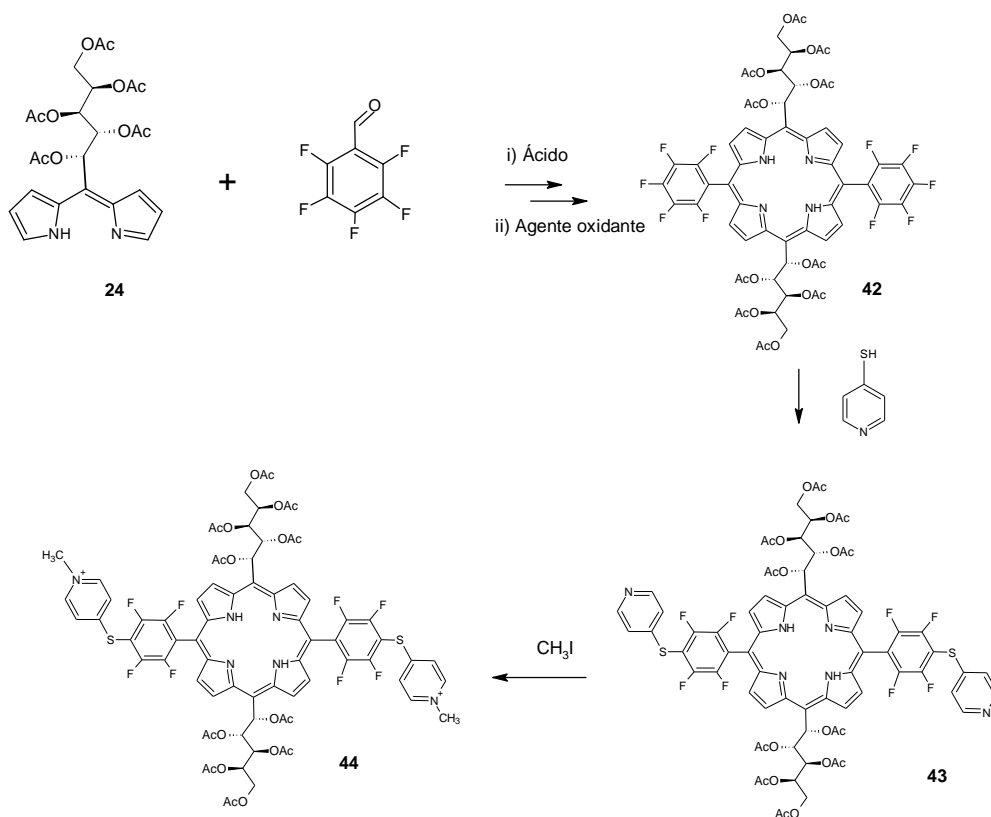
A substituição do CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> por CH<sub>3</sub>CN (Tabela 5, entradas 5 e 6) levou a um ligeiro aumento do rendimento de 0,4 % para 1,2%.

O baixo rendimento alcançado na síntese da glicoporfirina tornou inviável continuar a rota de síntese pretendida no Esquema 29.

Exemplos de síntese de porfirinas envolvendo 4-piridina carboxialdeído descritas na literatura apresentam baixos rendimentos. Ruzié e colaboradores investigaram a síntese de 5,15-bis-piridil-10,20-bis-(*o*-nitrofenil) porfirina por meio da reação entre 2-nitrobenzaldeído (1 eq.), 4-piridina carboxialdeído (1 eq.) e pirrol (2 eq.) em ácido acético em refluxo. Nestas condições, o rendimento alcançado foi de 1%. Outra estratégia utilizada foi por meio da reação entre *meso*(4-piridil) dipirrometano (1eq.) e 2-nitrobenzaldeído (1 eq.) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> na presença de TFA e

DDQ. Este estudo apresentou 1,25% de rendimento (RUZIÉ; MICHAUDET; BOITREL, 2002). Gryko e Tasior obtiveram rendimento de 8% na reação entre pentafluorofenil dipirrometano e 4-piridina carboxialdeído (GRYKO; TASIOR, 2003).

Outro aldeído escolhido para realizar a síntese das porfirinas planejadas para este trabalho foi o pentafluorobenzaldeído. Esta escolha baseou-se na facilidade de substituição do átomo de flúor em posição *para* (em relação à posição ligada ao carbono *meso* da porfirina correspondente) por substituição nucleofílica aromática ( $S_NAr$ ). O Esquema 30 abaixo mostra as possibilidades de síntese empregando este aldeído, o que proporciona a obtenção de glicoporfirinas neutras e catiônicas.



Esquema 30: Rota de síntese da porfirina catiônica **44** a partir do dipirrometano **24** e o pentafluorobenzaldeído.

A melhor condição encontrada para a reação entre o dipirrometano **24** e o benzaldeído (Tabela 3, entrada 6) foi aplicada para o pentafluorobenzaldeído (Tabela 6, entrada 1). Nestas condições o rendimento obtido foi de 3%.

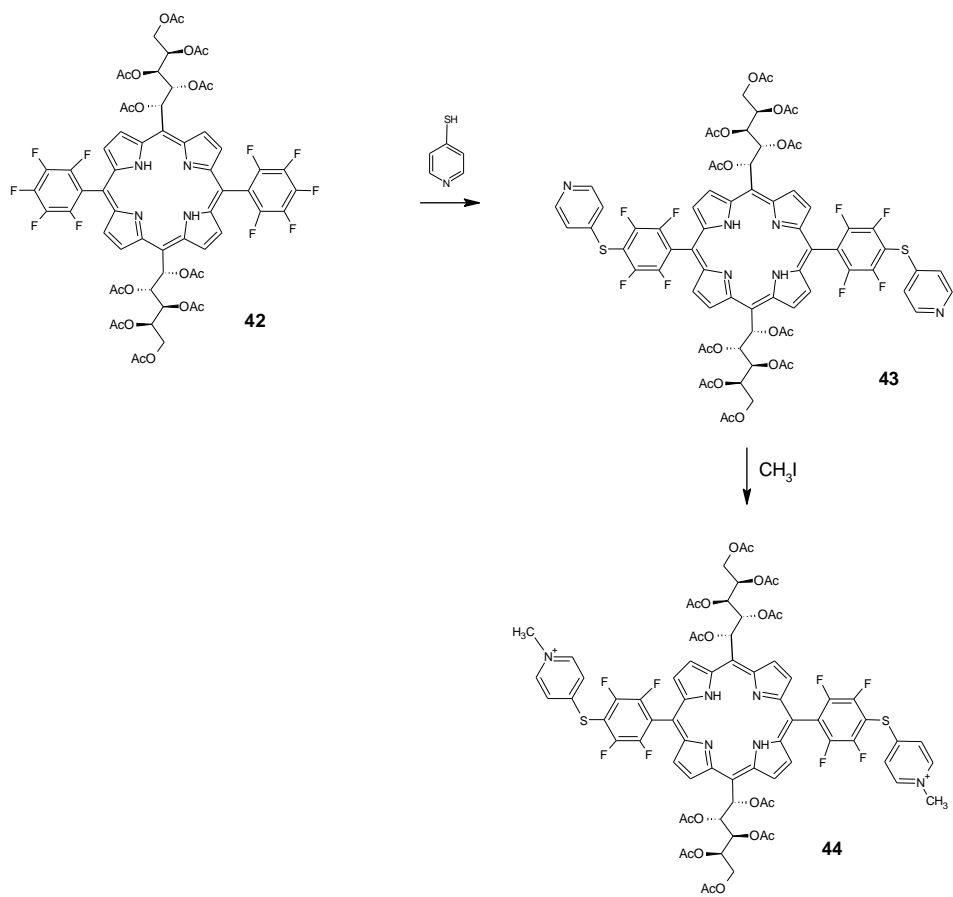
Comparou-se o uso de diferentes agentes oxidantes ( $\text{SeO}_2$  e DDQ) na reação. Neste caso, o experimento que utilizou o DDQ como oxidante apresentou um rendimento maior (7%) em comparação com o  $\text{SeO}_2$  (Tabela 6, entradas 1 e 2).

Em seguida, investigou-se o efeito do tempo e temperatura de condensação. Os resultados confrontados (Tabela 6, entradas 2, 3, 4 e 5) indicaram que quanto maior o tempo de condensação, menor foi o rendimento obtido. Também é possível constatar que os rendimentos mais elevados ocorrem em temperaturas mais altas.

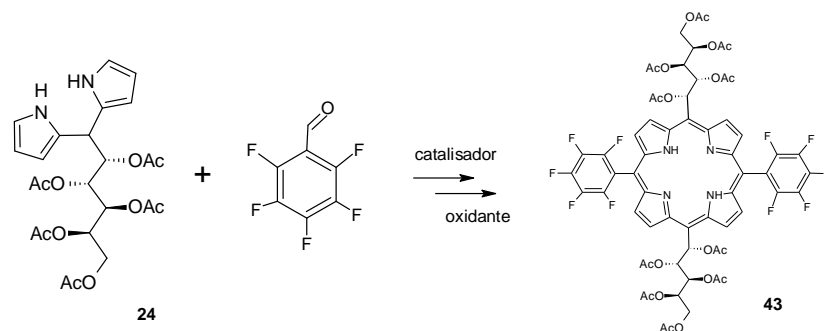
O uso de excesso de pentafluorobenzaldeído também foi avaliado. Neste caso, a condição relacionada com quantidades equimolares de dipirrometano e pentafluorobenzaldeído apresentou um melhor rendimento (Tabela 6, comparação das entradas 2 e 6).

Outra variável estudada foi o catalisador utilizado no meio de reação. A condição experimental onde o  $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$  foi escolhido apresentou 7% de rendimento. Em contrapartida, a reação que usou o TFA apresentou 4% de rendimento (Tabela 6, entrada 7).

Como um dos objetivos desta etapa do trabalho consistia na obtenção de glicoporfirinas catiônicas, uma reação de substituição nucleofílica na glicoporfirina **42** através da reação com mercaptopiridina e dietilamina em DMSO seco gerou uma glicoporfirina S-piridil **43** (74% rendimento). A partir desta porfirina foi possível obter uma glicoporfirina catiônica (**44**) com duas cargas positivas (52%) (ESQUEMA 31).



Esquema 31: Síntese da glicoporfirina catiônica **44**.

Tabela 6: Condições experimentais da otimização de síntese da porfirina **43**.

Entrada	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (mL)	Pirrol (mmol)	Aldeído (mmol)	BF <sub>3</sub> O(Et) <sub>2</sub> (mmol)	TFA (mmol)	Tempo de condensação (min)	T Condensação (°C)	SeO <sub>2</sub> (mmol)	DDQ (mmol)	Tempo de oxidação (min)	T Condensação (°C)	Rendimento (%)
1	10	1	1	0,07	-	30	60	5	-	60	t.a.	3
2	10	1	1	0,07	-	30	60	-	2,1	180	t.a.	7
3	10	1	1	0,07	-	60	60	-	2,1	180	t.a.	6
4	10	1	1	0,07	-	30	t.a.	-	2,1	180	t.a.	3
5	10	1	1	0,07	-	1440	t.a.	-	2,1	180	t.a.	2
6	10	1	2	0,07	-	30	60	-	2,1	180	t.a.	2
7	210,5	1	1	-	1	180	t.a.	-	2,1	180	t.a.	4

#### 4.5 SÍNTESE DE CLORINAS

A obtenção de clorinas é de grande interesse, pois quando comparadas as porfirinas, esses compostos apresentam uma unidade pirrólica reduzida. Esta mudança simples na estrutura macrocíclica resulta numa forte absorção na região do vermelho do espectro (650-800 nm) (FIGURA 33). Esta característica torna estes compostos ideais em tratamentos de infecções profundas de pele.

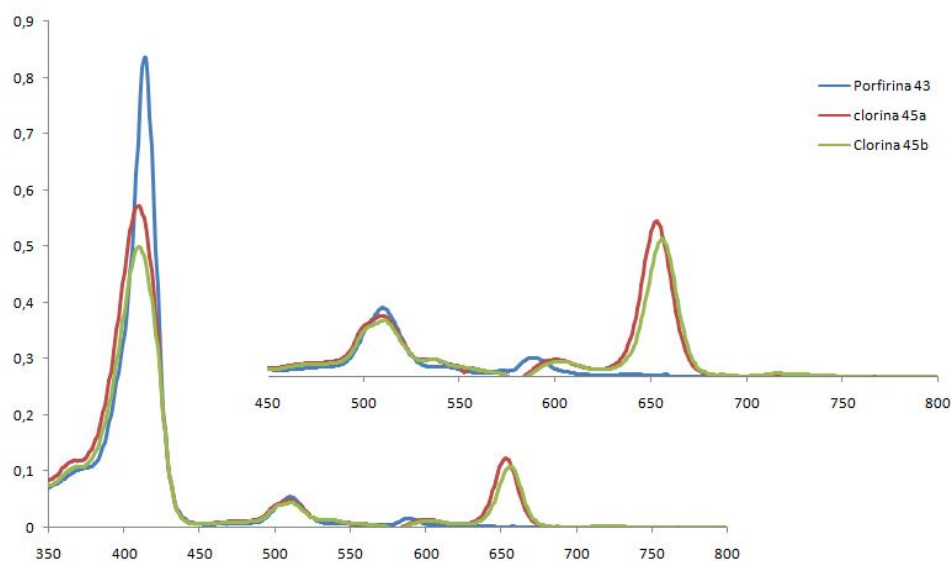


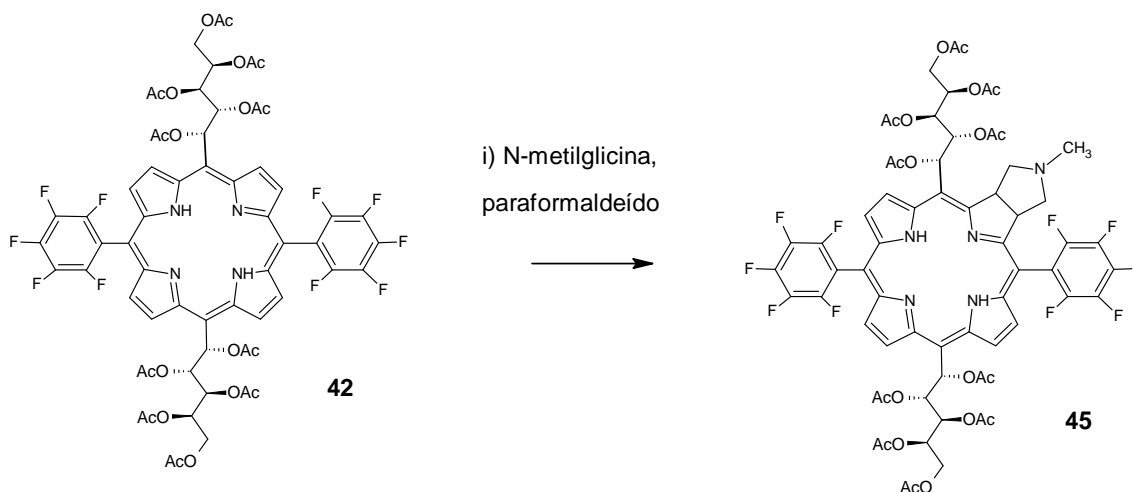
Figura 33: Comparação dos espectros de UV-vis da porfirina **43** e clorinas **45a** e **45b** em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Alguns trabalhos do grupo de química orgânica da Universidade de Aveiro demonstraram que *meso*-tetraarilporfirinas participam, como dipolarófilos, em reações de cicloadição 1,3-dipolar com íletos de azometino na obtenção de clorinas e bacterioclorinas (SILVA *et al.*, 1999; SILVA *et al.*, 2006).

As reações de cicloadição 1,3-dipolar de íletos de azometino são ferramentas versáteis e eficientes para a construção de anéis heterocíclicos de 5 membros com o nitrogênio. Um dos métodos de geração do 1,3-dipolo se dá pela condensação de compostos de carbonila com  $\alpha$ -aminoácidos, em que o ataque do grupo terminal







Esquema 33: Síntese de clorina **45** a partir da reação entre a porfirina **42** e ileto de azometino.

As clorinas **45a** e **45b** apresentaram a mesma massa molecular. Portanto, concluiu-se que os 2 compostos podem ser atropoisômeros. Provavelmente a temperatura elevada (110°C) da reação forneceu energia suficiente para a rotação da ligação entre o C-1 da porção carboidrato e o respectivo carbono *meso* e permitiu o isolamento de diferente atropoisômero. Os compostos obtidos não puderam ser completamente caracterizados por RMN até o momento.

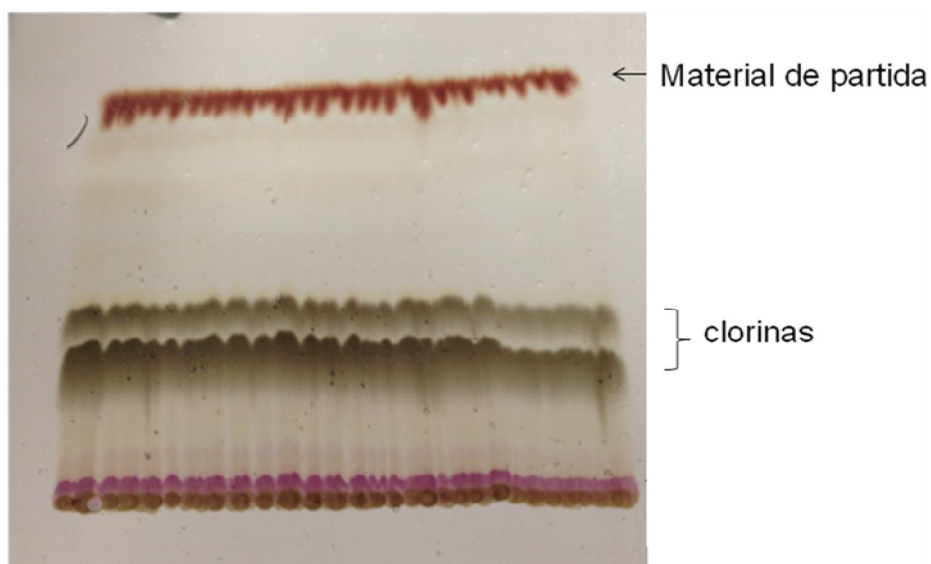
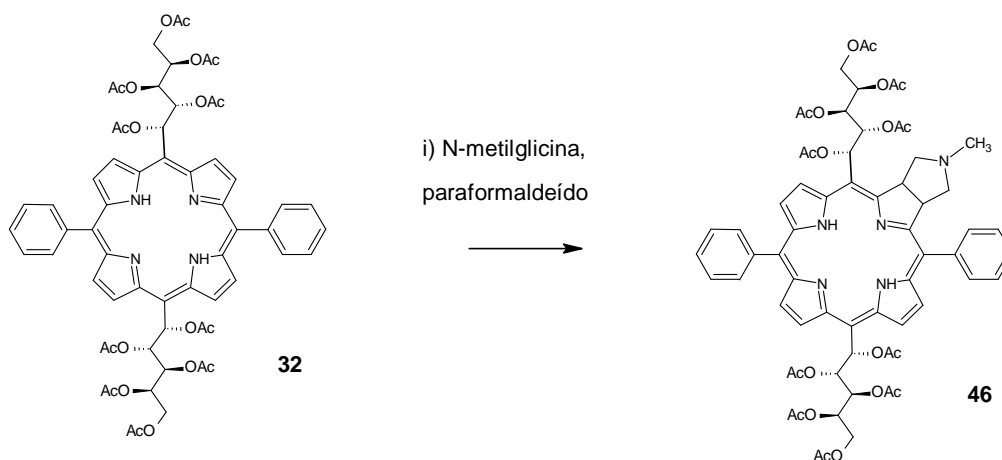


Figura 34: Fotografia de uma CCD preparativa da purificação da reação entre a porfirina **42** e o ileto de azometino

A reação entre a porfirina **32** com o ileto de azometino foi realizada em *o*-diclorobenzeno em refluxo (ESQUEMA 34). A cada 5 horas, quantidades adicionais de *N*-metilglicina e paraformaldeído foram adicionadas. Ao final de 18 horas, a clorina desejada ainda não havia sido formada, visto que não houve uma forte absorção na região de acima de 650 nm no espectro de UV-vis (FIGURA 35).



Esquema 34: Tentativa de síntese da clorina **46** a partir da reação entre a porfirina **32** e ileto de azometino.

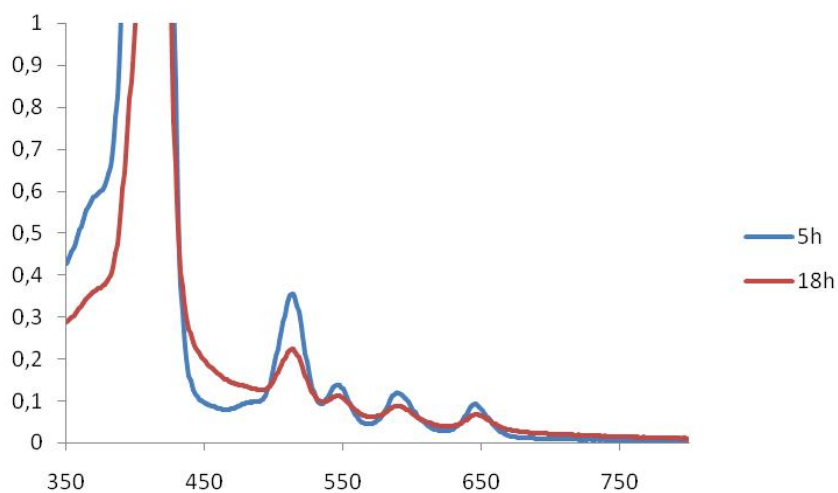
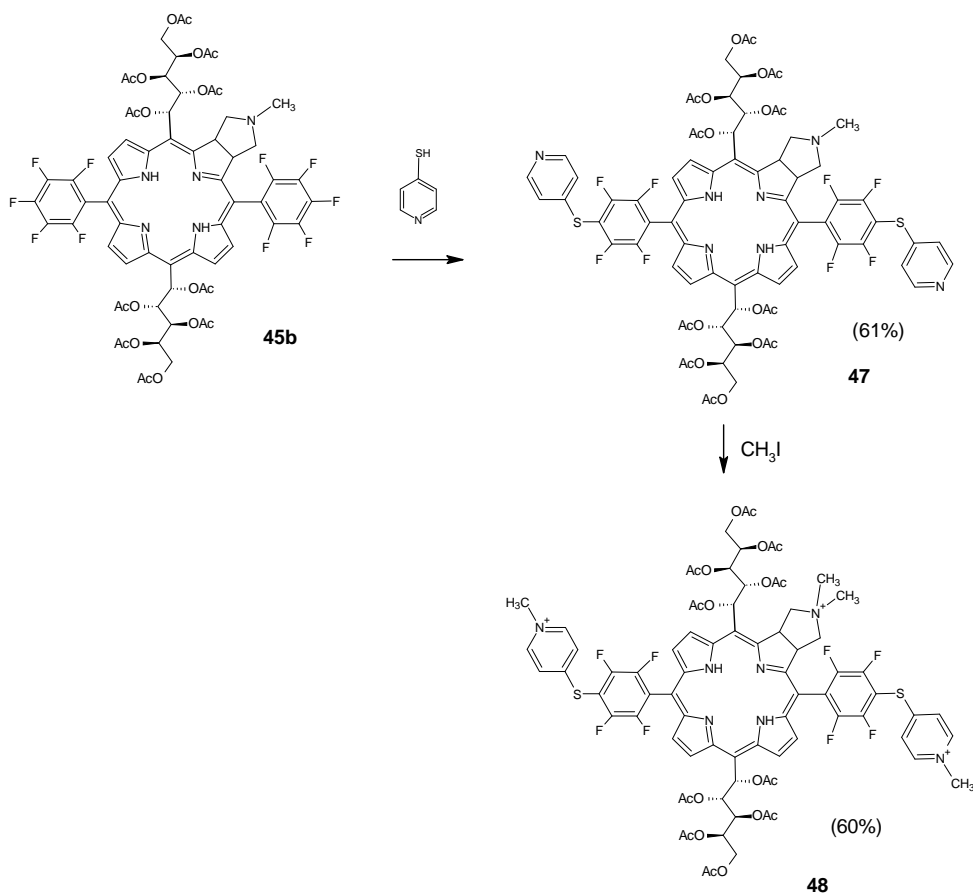


Figura 35: Espectro de UV-vis da reação entre a porfirina **32** e ileto de azometino

A presença de átomos de flúor retiradores de elétrons no grupo aril aumenta a reatividade da porfirina para o ataque do ileto azometino. Este fato explica a

formação da clorina a partir da porfirimina **42** e a não formação da clorina a partir de da porfirimina **32**.

Uma reação de substituição nucleofílica na clorina **45b** com 4-mercaptopiridina permitiu a formação da clorina S-piridil (61% de rendimento). Em seguida, procedeu-se a cationização da clorina onde foi possível obter um produto contendo três cargas positivas (60%) (ESQUEMA 35).

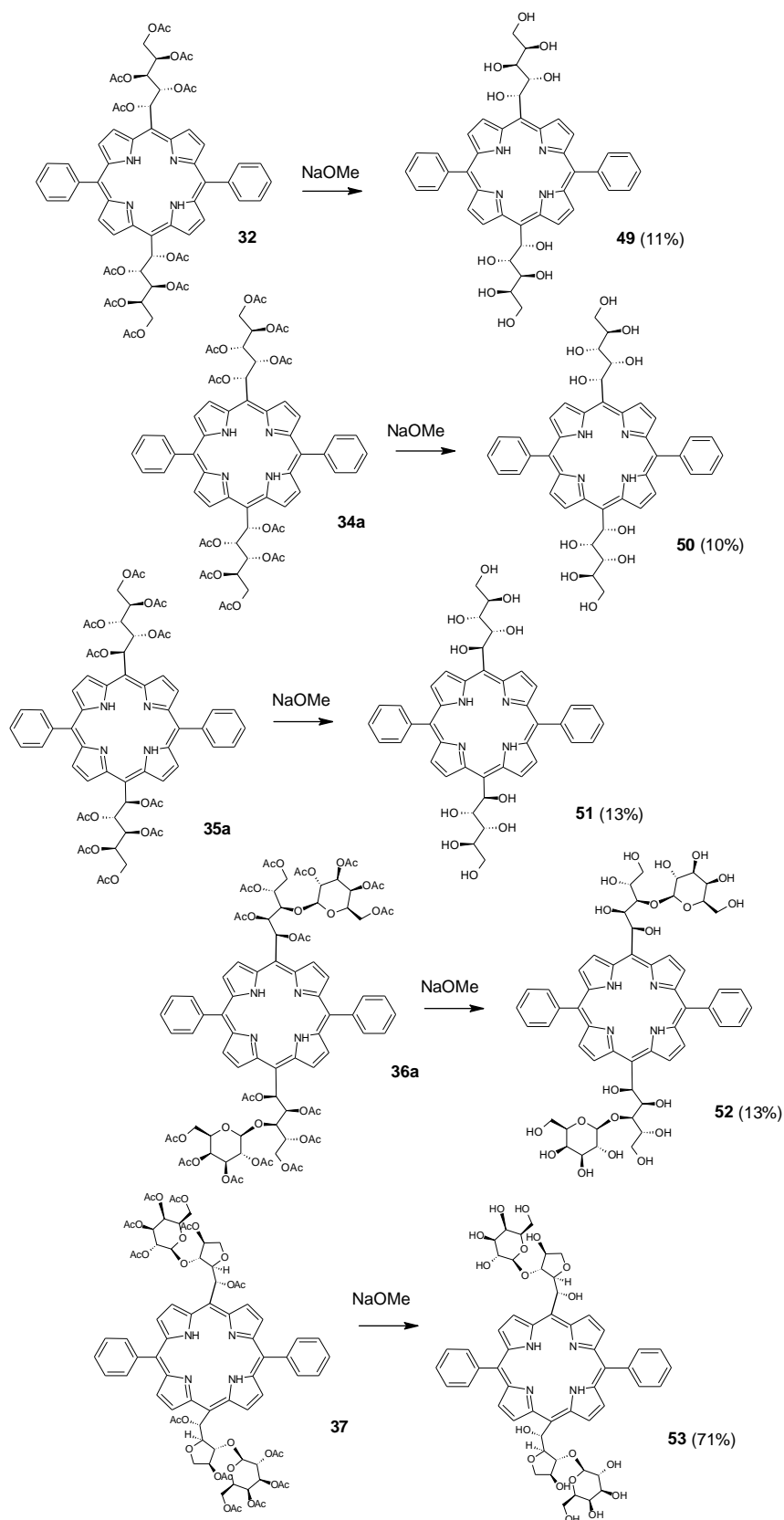


Esquema 35: Síntese da clorina catiônica **47**

#### 4.6 DESPROTEÇÃO DAS HIDROXILAS DAS GLICOPORFIRINAS O-ACETILADAS

A última parte das rotas sintéticas delineadas no presente trabalho correspondeu à desacetilação das porfirinas obtidas. O método mais comum para a remoção de grupos acetila de hidroxilas compreende o emprego do metóxido de sódio em metanol. No entanto, a desacetilação com metóxido de sódio para as C-

alditol porfirinas levou a formação de subprodutos e/ou diferentes graus de desacetilação e, conseqüentemente, a um baixo rendimento da glicoporfirina desacetilada (10-13%). É importante mencionar que o emprego do metóxido de sódio na reação de desacetilação da glicoporfirina derivada da agarobiose não formou subprodutos. Nesta reação o rendimento alcançado foi de 71%. A diferença estrutural entre a C-1 desoxialditol porfirina (o açúcar apresenta-se como cadeia acíclica) e a C-glicoporfirina (o açúcar é cíclico) pode ter sido o fator determinante para a formação, ou não, de subprodutos (ESQUEMA 36).



Esquema 36: Desacetilações dos compostos **34a**, **35a**, **36a** e **37**.

Outros métodos de desacetilação foram testados (utilizando pirrolidina, dietilamina) para a C-alditol porfirina derivado da galactose (**32**). Contudo, em todos os casos ocorreu a formação de subprodutos e baixo rendimento do produto desejado. As reações foram acompanhadas por CCD (FIGURA 36). Verificou-se que quanto maior o tempo das reações maior o grau de degradação da porfirina desacetilada.

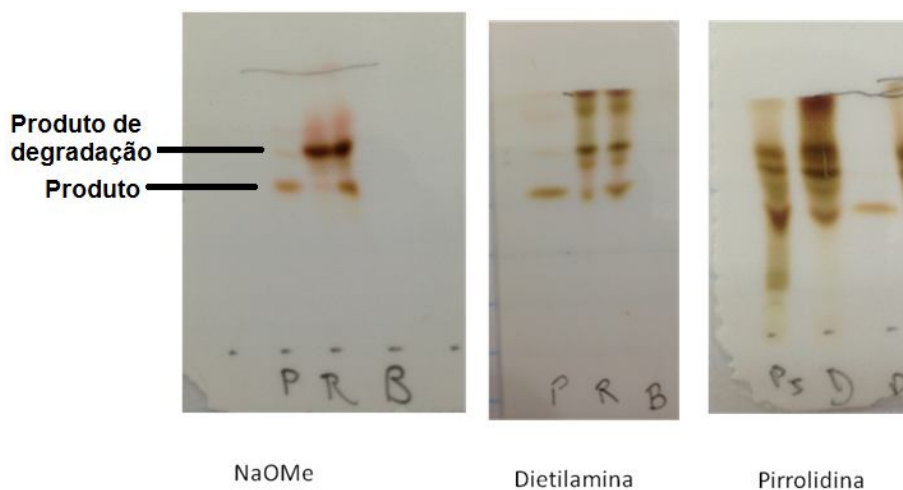


Figura 36: Fotografia de CCD das reações de desacetilações

## 4.7 ESTUDOS FOTOFÍSICOS

### 4.7.1. Determinação do rendimento quântico de $^1\text{O}_2$

Uma das características esperadas de um fotossensibilizador eficiente é a capacidade de gerar oxigênio singlete com rendimentos apreciáveis. A produção de  $^1\text{O}_2$  foi estimada para os compostos **32**, **34a**, **35a**, **36a**, **37**, **38a**, **39** e **40**. A avaliação da geração de  $^1\text{O}_2$  consistiu em uma metodologia indireta, baseada na reação do 1,3 difenilisobenzofurano (DFiBF) com o  $^1\text{O}_2$  gerado pelos derivados porfirínicos. Em seu estado inicial, o reativo receptor DFiBF apresenta forte absorção no comprimento de onda de 415 nm, porém após reagir com o  $^1\text{O}_2$  são gerados produtos incapazes de absorver nesta região de comprimento de onda (FIGURA 37). Portanto, o maior

decaimento da absorbância em 415 nm após irradiação representa uma maior quantidade de oxigênio singlete gerada.

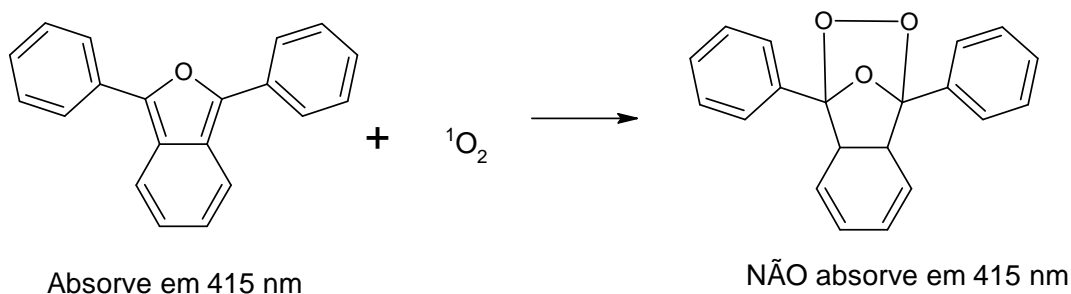


Figura 37: Reação entre o DFIBF e  $^1\text{O}_2$  demonstrando a formação do endoperóxido

Para o cálculo dos rendimentos quânticos de oxigênio singlete foi necessário a realização de ensaios empregando o composto azul de metileno para comparação. Este composto foi utilizado como referência e apresenta um rendimento quântico considerado excelente, sendo de 0,52. Para esta avaliação foram tomados os dados obtidos nos primeiros oito primeiros minutos de irradiação, onde foi observada linearidade no decaimento da absorbância do reativo DFIBF frente a irradiação, tanto na presença das amostras como na presença do padrão.

A partir dos valores obtidos no ponto máximo de absorção do DFIBF (415 nm), foram traçados os gráficos de decaimento (Gráfico 1a-g) e extraídos os valores do coeficiente angular da reta ( $\alpha$ ) utilizados no cálculo do rendimento quântico de oxigênio singlete ( $\Phi_\Delta$ ).



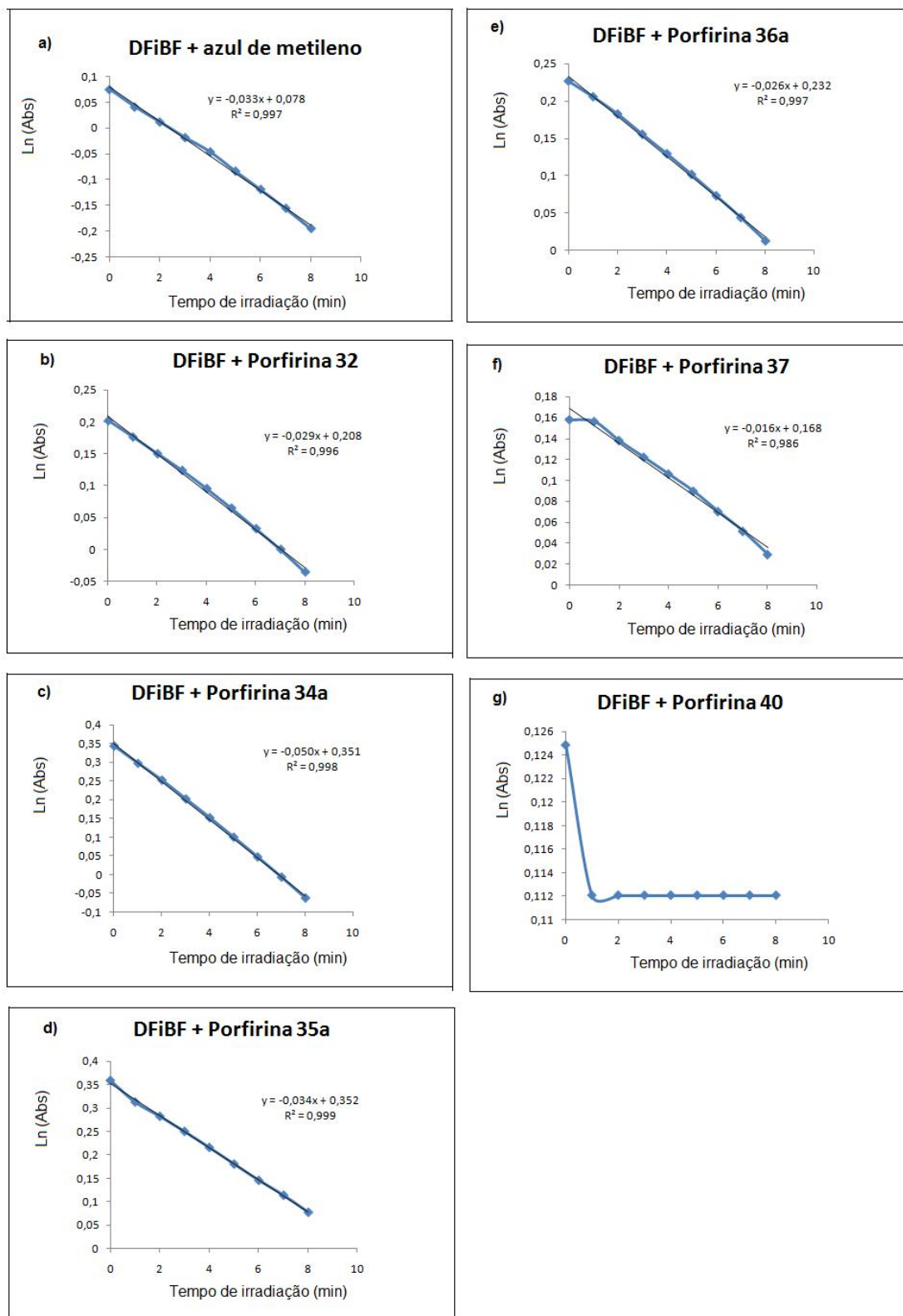


Gráfico 1a-g: Gráfico do logaritmo natural da absorvância do DFiBF (y) *versus* tempo de irradiação (x) das porfirinas **32–40** e do padrão azul de metileno. Irradiação a 9 mW/cm<sup>2</sup> na faixa de comprimento de onda de 550-800nm. DFiBF a 50 µmol/L; porfirinas e azul de metileno a 0,5 µmol/L em DMF/H<sub>2</sub>O (9:1).

O comportamento de decaimento da reta (GRÁFICO 1g), observado para a porfirina **40**, indicou a formação de agregados. No trabalho descrito por Dallagnol e colaboradores foi utilizado uma solução de SDS 0,1 mg/ 100 mL para evitar a agregação de uma porfirina sem interferência significativa na absorbância. Dessa forma, o composto **40** foi submetido à determinação do rendimento quântico de  $^1\text{O}_2$  sendo dissolvido em DMF e solução de SDS ao invés de DMF e água (GRÁFICO 2).

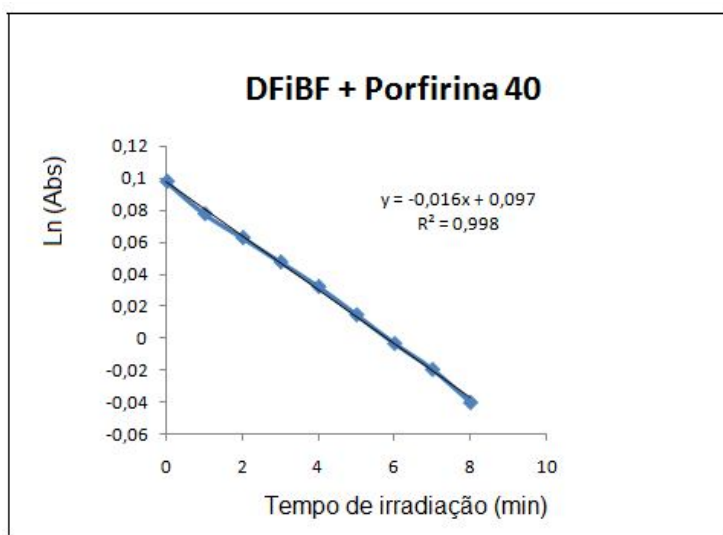


Gráfico 2: Gráfico do logaritmo natural da absorbância do DFIBF (y) *versus* tempo de irradiação (x) das porfirinas **40**. Irradiação a 9 mW/cm<sup>2</sup> na faixa de comprimento de onda de 550-800nm. DFIBF a 50 µmol/L; porfirinas a 0,5 µmol/L em DMF/SDS (9:1).

A Tabela 7 resume os valores encontrados para o rendimento quântico de  $^1\text{O}_2$  calculados segundo a equação:

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}} \frac{R \cdot I_{\text{abs}}^{\text{Padrão}}}{R^{\text{Padrão}} \cdot I_{\text{abs}}}$$

Nesta equação,  $\Phi_{\Delta}$  representa o rendimento quântico das porfirinas e  $\Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}}$  representa o rendimento quântico do padrão (para o azul de metileno  $\Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}} = 0,52$ ).  $R$  e  $R^{\text{Padrão}}$  são os coeficientes angulares do consumo do DFIBF na presença das porfirinas e do azul de metileno. Uma vez que a reação é de primeira ordem, estes parâmetros podem ser obtidos do gráfico que apresenta o

logaritmo natural (ln) da absorbância do DFIBF versus o tempo de irradiação.  $I_{abs}$  e  $I_{Padrão}$  são as constantes de absorção luminosa para a amostra e para o azul de metileno respectivamente, consideradas iguais no presente trabalho.

Tabela 7: Rendimentos quânticos de oxigênio singlete ( $\Phi_{\Delta}$ ).

Compostos	R ( $\alpha$ )	( $\Phi_{\Delta}$ )
Azul de metileno	0,0333	0,52
Porfirina <b>32</b>	0,029	0,45 $\pm$ 0
Porfirina <b>34a</b>	0,05	0,75 $\pm$ 0,044
Porfirina <b>35a</b>	0,034	0,49 $\pm$ 0,055
Porfirina <b>36a</b>	0,026	0,40 $\pm$ 0,011
Porfirina <b>37</b>	0,016	0,24 $\pm$ 0,011
Porfirina <b>38a</b>	0,033	0,52 $\pm$ 0,011
Porfirina <b>39</b>	0,033	0,49 $\pm$ 0,033
Porfirina <b>40</b>	0,016	0,24 $\pm$ 0,011
Photofrin®*	--	0,32

\*valor proveniente da literatura (Silva *et al.*, 2010)

A geração de  $^1\text{O}_2$  foi crescente para as porfirinas na seguinte ordem: Porfirina **37** = porfirina **40** < Porfirina **36a** < Porfirina **32** < Porfirina **35a** = Porfirina **39** < Porfirina **38a** < Porfirina **34a**.

Os rendimentos quânticos de oxigênio singlete gerado pelas porfirinas **32**, **34a**, **35a**, **36a**, **38a**, **39** podem ser considerados excelentes, sendo superiores às quantidades encontradas para o padrão ouro (Photofrin®) na terapia fotodinâmica. A porfirina **37** e **40** apresentaram resultado moderado para o rendimento quântico de  $^1\text{O}_2$  ( $\Phi_{\Delta}$  = 0,24). A estrutura química dos açúcares interferiu na geração de  $^1\text{O}_2$ . Observou-se que as porfirinas contendo a porção açúcar acíclica (C-aliditol porfirinas) geraram uma quantidade maior de  $^1\text{O}_2$  em comparação com a porfirina contendo o açúcar cíclico.

Ao comparar o rendimento quântico somente das porfirinas C-aliditol (**36a** < **32** < **35a** < **34a**) com seus respectivos espectros de RMN  $^1\text{H}$  obtidos em diferentes temperaturas (Figura 27), é possível notar a existência de uma relação. Aparentemente, as porfirinas que apresentam coalescimento de sinais nas

temperaturas mais baixas foram as melhores produtoras de oxigênio singlete. Como não foi possível observar a coalescência total para maioria das porfirinas estudadas, esta relação pode ser evidenciada pela observação da temperatura onde o conjunto de sinais referentes aos hidrogênios  $\beta$ -pirrólicos vizinhos às porções açúcar (mostrados na Figura 27) coalesce em dois sinais alargados: **36a** (60 °C) > **32** (55 °C) ~ **35a** (55 °C) > **34a** (50 °C). Esta relação sugere que menores barreiras energéticas para a inteconversão entre os confôrmeros podem estar relacionadas às menores barreiras energéticas entre os estados  $S_1$  e  $T_2$  do fotossensibilizador (via cruzamento de intersistemas – Figura 4), o que aumentaria o potencial de uma dada molécula produzir quantidades apreciáveis de oxigênio singlete.

#### 4.8 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os experimentos biológicos aqui apresentados foram realizados em parceria com as Universidades de Aveiro e Coimbra, onde aluna de doutorado Patrícia Pereira executou esta parte do trabalho. As células de câncer de bexiga (linhagem UM-MC-3) foram utilizadas como modelo para a avaliação de parte das porfirinas sintetizadas no presente trabalho. A linhagem celular escolhida é reconhecida por expressar galectinas em sua superfície, o que é apropriado considerando-se o fato que várias das glicoporfirinas sintetizadas possuem galactose em suas estruturas. Até o momento, foram avaliadas a atividade fotodinâmica apenas de 4 glicoporfirinas sintetizadas neste trabalho (FIGURA 38).

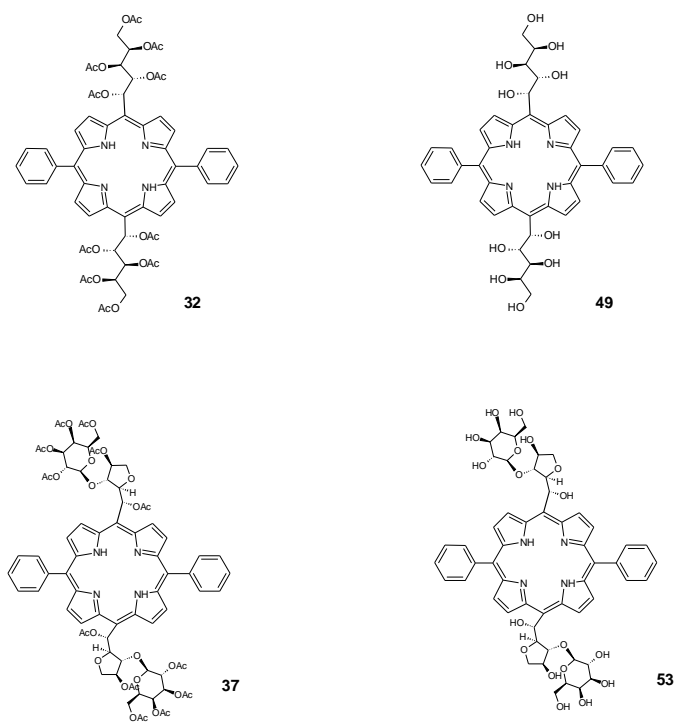


Figura 38: Estrutura química dos compostos testados nas células UM-MC-3.

Os experimentos no escuro demonstraram que as glicoporfirinas testadas não apresentam citotoxicidade na ausência de luz (GRÁFICO 3).

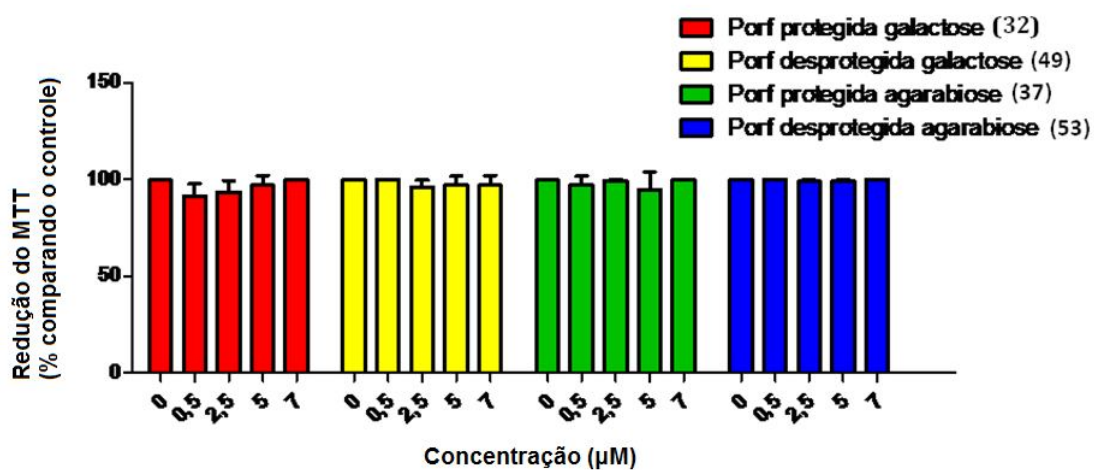


Gráfico 3: Toxicidade dos compostos no escuro após um tempo de uptake de 4h, N=1, triplicados.

N=1 (triplicados)

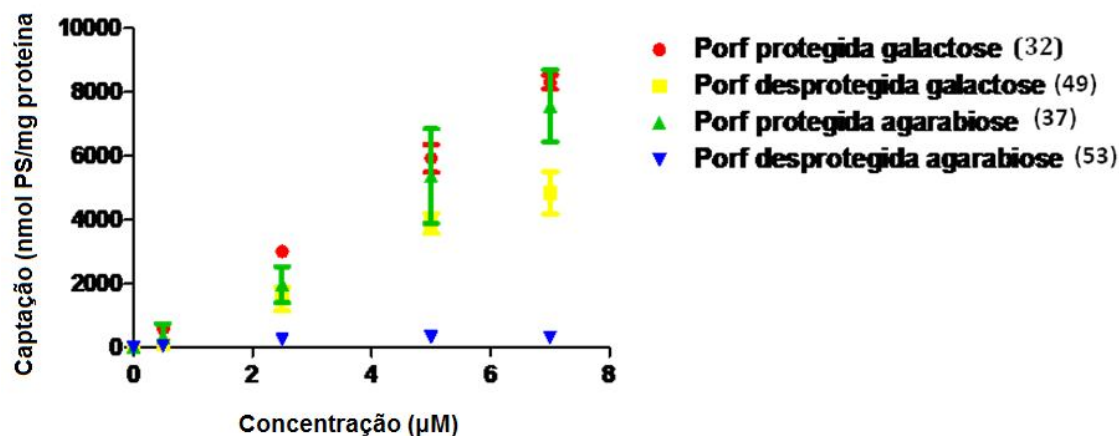


Gráfico 4: Experimento de captação dos compostos durante um tempo de 4h.

Os dados dos ensaios de captação indicaram que as glicoporfirinas desacetiladas apresentaram uma menor captação pelas células UM-MC-3 quando comparadas com as glicoporfirinas acetiladas (GRÁFICO 4). Em contrapartida, a glicoporfirina derivada da galactose acetilada é a que teve uma melhor captação pelas células cancerígenas.

Pereira e colaboradores (2014) testaram a atividade antitumoral de ftalocianinas (fotossensibilizador) ligadas a dedrímeros de galactose em células UM-MC-3. A adição de 5 µM da ftalocianinas nas células UM-MC-3 resultaram numa alta concentração intracelular ( $2.973 \pm 119,1$  nmol por mg de proteína). Comparando com os resultados obtidos nesta tese, na concentração de 5 µM de porfirina derivada da galactose desprotegida, a captação pelas células foi próximo de 3.000 nmol por mg de proteína. Logo, apesar da porfirina apresentar uma menor captação em relação a porfirina protegida, a captação apresentada não foi baixa.

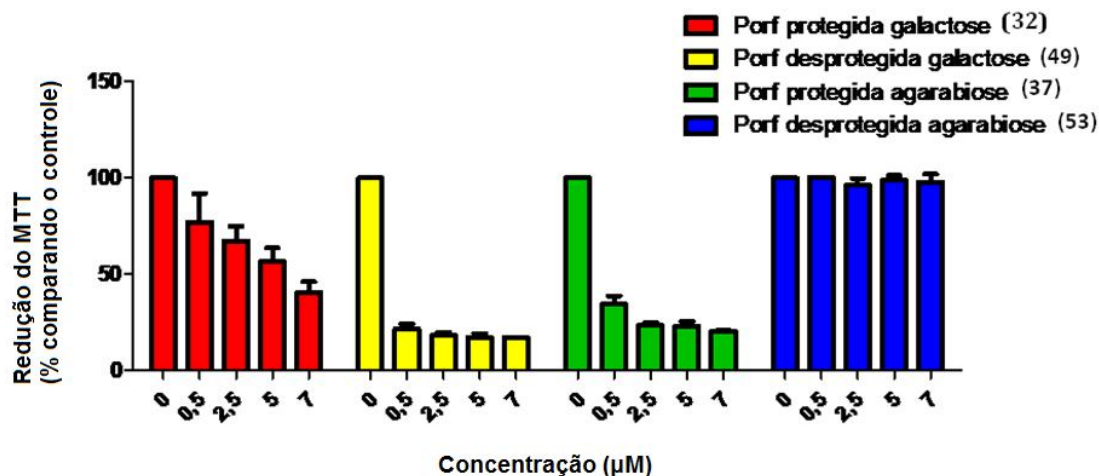


Gráfico 5: Fototoxicidade dos compostos no escuro após um tempo de uptake de 4h, irradiação durante 40 min com luz branca, 8.4 mW/cm<sup>2</sup>, N=1, triplicados.

Pelos ensaios preliminares, pode-se concluir que apesar da porfirina derivada da galactose acetilada apresentar uma maior captação pelas células tumorais (GRÁFICO 4), a mesma apresentou uma menor atividade antitumoral quando comparada com sua porfirina desprotegida correspondente (GRÁFICO 5). Este fato pode ser explicado provavelmente pela maior produção de oxigênio singlete pela porfirina desprotegida (**49**) em comparação com a porfirina **32**. Outra possibilidade reside no fato que a porfirina protegida (**32**) pode ter permanecido na membrana da célula alvo, devido a sua maior lipofilicidade, apresentando uma menor fototoxicidade.

A porfirina derivada da agarobiose desacetilada (**53**) por conter mais hidroxilas em sua estrutura apresenta um caráter mais hidrofílico em comparação com outros compostos testados. Provavelmente esta característica fez com que este composto apresentasse uma menor captação pelas células tumorais e consequentemente uma menor fototoxicidade. Isto indica que o balanço hidrofílico/hidrofóbico dos compostos é um fator importante na captação dos fotossensibilizadores pelas células tumorais e consequentemente na atividade fotodinâmica.

Ensaios biológicos utilizando outras glicoporfirinas sintetizadas neste trabalho ainda encontram-se em andamento.

Para um melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na PDT, será necessário realizar um experimento com células nocauteadas (genes responsáveis pela galectinas suprimidos) com objetivo de avaliar se há o envolvimento das galectinas na captação dos compostos pelas células tumorais.



## 5. CONCLUSÃO

Nesta tese foram sintetizados 53 compostos, dos quais 42 são inéditos: 3 derivados dietilditioacetais, 3 aldeídos, 8 glicodipirrometanos, 22 porfirinas C-alditol, 4 clorinas C-alditol e 2 porfirinas C-glicosídeo.

Primeiramente foi determinada uma rota sintética para a obtenção das porfirinas C-alditol e C-glicosídeo, a qual baseou-se na utilização de intermediários glicodipirrometanos. Para obtenção destes intermediários, foi desenvolvida uma nova estratégia sintética que consistiu na conversão de derivados dietil ditioacetais nos intermediários glicodipirrometanos.

De posse dos intermediários glicodipirrometanos, foi então realizada uma série de experimentos de otimização de síntese para a obtenção das glicoporfirinas. Este estudo possibilitou determinar as melhores condições, tanto para obtenção das porfirinas desejadas, quanto de um produto correspondente a porfirinas  $\alpha,\beta$ -insaturadas. Os resultados indicaram que a formação da dupla ligação está associada a eliminação dos dois grupos acetiloxi que ocupam o carbono diretamente ligado ao anel porfirínico e seu carbono adjacente (C-1' e C-2'). Esta eliminação ocorre somente na presença de grupos protetores do tipo ésteres. A estereoquímica não interfere na formação dos produtos insaturados e não interfere na isomeria geométrica do produto formado. Além disso, a formação de porfirinas  $\alpha,\beta$ -insaturadas foi favorecida ao utilizar o  $\text{SeO}_2$  como oxidante na oxidação do porfirinogênio à porfirina.

Adicionalmente, um dos intermediários glicodipirrometanos obtidos (galactitoldipirrometano), foi empregado para síntese de porfirinas derivadas de outros aldeídos aromáticos, especificamente, o pentafluorbenzaldeído e o piridina carboxaldeído. Devido aos baixos rendimentos, a rota sintética envolvendo as porfirinas derivadas do piridina carboxaldeído foi descontinuada. No caso das porfirinas derivadas do pentafluorbenzaldeídos, as mesmas foram sintetizadas, onde foi possível o preparo de derivados neutros, catiônicos, além de derivados do tipo clorina.

Uma das porfirinas sintetizadas (**32**) teve alguns de seus aspectos conformacionais estudados por RMN  $^1\text{H}$  (em temperaturas variadas) e por técnicas

de NOE e NOESY. Este estudo indicou que a porfirina em questão apresenta-se como uma mistura de quatro confôrmeros com simetria  $C_2$ , os quais apresentam diferenças tanto na distorção do anel porfirínico, quanto nas porções açúcar.

Vários métodos de desacetilação (métoxido de sódio, pirrolidina, dietilamina) foram testados na porfirina **32**. A desacetilação com métoxido de sódio para as C-alditol porfirinas levou a formação de subprodutos e/ou diferentes graus de desacetilação e um baixo rendimento da glicoporfirina desacetilada. Já a desacetilação da glicoporfirina derivada da agarobiose (**37**) não formou subprodutos. A diferença estrutural entre a porfirina C-alditol (o açúcar apresenta-se como cadeia acíclica) e a porfirina C-glicosídeo (o açúcar é cíclico) pode ter sido o fator determinante para a formação, ou não, de subprodutos.

A estrutura química dos açúcares também interferiu na geração de  $^1O_2$ . Observou-se que as porfirinas contendo a porção açúcar acíclica (C-alditol porfirinas) geraram uma quantidade maior de  $^1O_2$  em comparação com a porfirina C-glicosídeo. Ainda, foi observada uma correlação entre baixas barreiras energéticas para interconversão entre os confôrmeros apresentados pelas porfirinas C-alditol acetiladas e as suas capacidades de produzir  $^1O_2$  em quantidades apreciáveis. Neste caso, quanto menor a barreira energética para a interconversão entre os confôrmeros, maior o rendimento quântico de  $^1O_2$ .

Comparou-se a atividade antitumoral das porfirinas acetiladas e desacetiladas frente às células UM-MC-3. As porfirinas testadas não apresentaram citotoxicidade na ausência de luz. A porfirina **49** mostrou-se como um agente terapêutico promissor no tratamento de câncer de bexiga.

## 6. PERSPECTIVAS

O projeto que deu origem a esta Tese ainda encontra-se em execução, especificamente em relação as etapas envolvendo ensaios biológicos frente às células UM-MC-3. Os resultados futuros servirão para o entendimento das relações estrutura-atividade das C-glicoporfirinas obtidas.

Em trabalhos posteriores também serão realizados os experimentos de PDI dos compostos catiônicos obtidos.

Adicionalmente, o grupo de pesquisa deste trabalho tem estudado diferentes formas de desacetilação para as porfirinas C-alditol com o intuito de alcançar um melhor controle destas reações.

## REFERÊNCIAS

ADLER, A. D.; LONGO, F. R.; FINARELLI, J. D.; GOLDMACHER, J.; ASSOUR, J.; KORSAKOFF, L. A. Simplified synthesis for *meso*-tetraphenylporphin. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v.32, p. 476, 1967.

ALVES, E., COSTA, L., CARVALHO, C., TOMÉ, P. C., FAUSTINO, M. A. F., NEVES, M. G. P. M. S., TOMÉ, A. C., CAVALEIRO, J. A. S., CUNHA, A., ALMEIDA, M. A. Charge effect on the photoinactivation of Gram-negative and Gram-positive bacteria by cationic *meso*-substituted porphyrins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v.9, p.70, 2009.

ALVES, E.; FAUSTINO, M. A. F.; NEVES, M. G. P. M. S.; CUNHA, A.; TOMÉ, J. P.C.; ALMEIDA, A. An insight on bacterial cellular targets of photodynamic inactivation. **Future Medicinal Chemistry**, v.6, p. 141-164, 2014.

ANDERSON, H. L. *Meso*-alkynyl porphyrins. **Tetrahedron Letters**, Elmsford, v. 33, p. 1101-1104, 1992.

ARUNKUMAR, C.; BHYRAPPA, P.; VARGHESE, B. Synthesis and axial ligation behaviour of sterically hindered Zn(II)-porphyrin liquid crystals. **Tetrahedron Letters**, Elmsford, v. 47, p. 8033-8037, 2006.

ASANAKA, M.; KURIMURA, T.; TOYA, H.; OGAKI, J.; KATO, Y. Anti-HIV activity of protoporphyrin. **AIDS**, London, v. 3, p. 403, 1989.

ASHKENAZI, H.; MALIK, Z.; HARTH, Y.; NITZAN, Y. Eradication of *Propionibacterium acnes* by its endogenic porphyrins after illumination with high intensity blue light. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 35, p. 17-24, 2003.

BALL, R. H.; DOROUGH, G. D.; CALVIN, M. A Further Study of the porphine-like products of the reaction of benzaldehyde and pyrrole. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 68, p. 2278-2281, 1946.

BANFI, S.; CARUSO, E.; BUCCAFURNI, L.; MURANO, R.; MONTI, E.; GARIBOLDI, M.; PAPA, E.; GRAMATICA, P. Comparasion between 5,10,15,20-Tetraaryl- and 5,15-diarylporphyrins as photosensitizers: synthesis, photodynamic activity, and quantitative structure–activity relationship modeling. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 49, p. 3293-3304, 2006.

BOEHNCKE, W. H.; ELSHORST-SCHMIDT, T.; KAUFMANN, R. Systemic photodynamic therapy is a safe and effective treatment for psoriasis. **Archives of Dermatology**, Chicago, v. 136, p. 271-272, 2000.

BOËNS, B.; FAUGERAS, P.A.; VERGNAUD, J.; LUCAS, R.; TESTE, K.; ZERROUKI, R. Iodine-catalyzed one-pot synthesis of unsymmetrical *meso*-substituted porphyrins. **Tetrahedron**, Oxford, v. 66, p.1994-1996, 2010.

BONNET, R. **The porphyrins**, D. Dolphin, Ed., Academic Press, Nova Iorque, v.1, cap.1, 1978.

BONNET, R.; BUCKLEY, D. G.; BURROW, T.; GALIA, A. B. B.; SAVILLE, B.; SONGCA, S. P. Photobactericidal materials based on porphyrins and phthalocyanines. **Journal of materials chemistry**, Cambridge, v. 3, p. 323-324, 1993.

BONNET, R. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy. **Chemical Society Reviews**, London, v. 24, p. 19-33, 1995.

BONNET, R.; KRYSTEVA, M. A.; LALOV, I. G.; ARTARSKY, S. V. Water disinfection using photosensitizers immobilized on chitosan. **Water Research**, New York, v. 40, p. 1269-1275, 2006.

CALZAVARA-PINTON, P. G.; VENTURINI, M.; SALA, R. A comprehensive overview of photodynamic therapy in the treatment of superficial fungal infections of the skin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 78, p. 1-6, 2005.

CARRÉ, V.; GAUD, O.; SYLVAIN, I.; BOURDON, O.; SPIRO, M.; BLAIS, J.; GRANET, R.; KRAUSZ, P.; GUILLOTON, M. Fungicidal properties of *meso*-aryl glycosylporphyrins: influence of sugar substituents on photoinduced damage in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 48, p. 57-62, 1999.

CARVALHO, C. M. B.; GOMES, A. T. P. C.; FERNANDES, S. C. D.; PRATA, A. C. B.; ALMEIDA, M. A.; CUNHA, M. A.; TOMÉ, J. P. C.; FAUSTINO, M. A. F.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S.; LIN, Z.; RAINHO, J. P.; ROCHA, J. Photoinactivation of bacteria in wastewater by porphyrins: bacterial  $\beta$ -galactosidase activity and leucine-uptake as methods to monitor the process. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 88, p. 112-118, 2007.

CASIRAGHI, G.; CORNIA, M.; ZANARDI, F.; RASSU, G.; RAGG, E.; BORTOLINI, R. Synthesis and characterization of porphyrin-sugar carbon conjugates. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 59, p. 1801-1808, 1994.

CONNOR, A. E.; GALLEGHER, W. M.; BYRNE, A. T. Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: preclinical and clinical advances in photodynamic therapy. **Photochemistry and Photobiology**, Oxford, v. 85, p. 1053-1074, 2009.

CORNIA, M.; MENOZZI, M.; RAGG, E.; MAZZINI, S.; SCARAFONI, A.; ZANARDI, F.; CASIRAGHI, G. Synthesis and utility of novel C-*meso*-glycosylated metalloporphyrins. **Tetrahedron**, Oxford, v. 56, p. 3977-3983, 2000.

CORNICK, M. P.; ALVAREZ, M. G.; ROVERA, M.; DURANTINI, E. N. Photodynamic inactivation of *Candida albicans* sensitized by tri- and tetra- cationic porphyrin

derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 44, p. 1592-1599, 2009.

COSTA, L.; ALVES, E.; CARVALHO, C. M. B.; TOMÉ, J. P. C.; FAUSTINO, M. A. F.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S.; CUNHA, A.; ALMEIDA, A. Sewage bacteriophage photoinactivation by cationic porphyrins: a study of charge effect. **Photochemical & Photobiological Sciences**, Cambridge, v. 7, p. 415-422, 2008.

COSTA, D. C. S.; GOMES, M. C.; FAUSTINO, M. A. F.; NEVES, M. G. P. M. S.; CUNHA, A.; CAVALEIRO, J. A. S.; ALMEIDA, A.; TOMÉ, J. P. C. Comparative photodynamic inactivation of antibiotic resistant bacteria by first and second generation cationic photosensitizers. **Photochemical & Photobiological Sciences**, Cambridge, v.11, p. 1905-1913, 2012.

DAI, T.; HUANG, Y. Y.; HAMBLIN, M. R. Photodynamic therapy for localized infections-State of the art. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v.6, p.170-188, 2009.

DALLAGNOL, J. C. C.; DUCATTI, D. R. B.; BARREIRA, S. M. W.; NOSEDA, M. D.; DUARTE, M. E. R.; GONÇALVES, A. G. Synthesis of porphyrin glycoconjugates bearing thiourea, thiocarbamate and carbamate connecting groups: influence of the linker on chemical and photophysical properties. **Dyes and Pigments**, v.107, p. 69-80, 2014.

DEROSA, M. C.; CRUTCHLEY, R. J. Photosensitized singlet oxygen and its applications. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 233- 234, p. 351-371, 2002.

DUCATTI, D. R. B.; MASSI, A.; NOSEDA, M. D.; DUARTE, M. E. R.; DONDONI, A. Production of carbohydrate building blocks from red seaweed polysaccharides. Efficient conversion of galactans into C-glycosyl aldehydes. **Organic & Biomolecular Chemistry**, Cambridge, v. 7, p. 576-588, 2009.

FATEEVA, A.; CALBOREAN, A.; PÉCAUT, J.; MALDIVI, P.; MARCHON, J.C.; DUBOIS, L. Synthesis and conformational studies of chiral *meso*- ( $\alpha,\beta$ -unsaturated)-porphyrins. **Tetrahedron**, Oxford, v. 64, p. 10874-10881, 2008.

FERRAND, Y.; BOURRÉ, L.; SIMONNEAUX, G.; THIBAUT, S.; ODOBEL, F.; LAJAT, Y.; PATRICE, T. Hydroporphyrins as tumor photosensitizers: synthesis and photophysical studies of 2,3-Dihydro-5,15-di(3,5-dihydroxyphenyl) porphyrin. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. New York, v. 13, p. 833-835, 2003.

FERREIRA, W.F.C., Sousa, J.C.F, **Microbiologia**, Vol.I, Lisboa, Lidel, 1998.

FRIEDBERG, J. S.; SKEMA, C.; BAUM, E. D.; BURDICK, J.; VINOGRADOV, S. A.; WILSON, D. F.; HORAN, A. D.; NACHAMKIN, I. In vitro effects of photodynamic therapy on *Aspergillus fumigatus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 48, p. 105-107, 2001.

FU, X. J.; FANG, Y.; YAO, M. Antimicrobial photodynamic therapy for methicillin-resistant staphylococcus aureus infection. **BioMed Research International**, 2013.

GEIR III, G. R.; LITTLER, B. J.; LINDSEY, J. S. Investigation of porphyrin-forming reactions. Part 3. The origin of scrambling in dipyrromethane + aldehyde condensations yielding *trans*-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>-tetraarylporphyrins. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, London, p. 701-711, 2001.

GONSALVES. A. M. d'A. R.; VAREJÃO, J. M. T. B; PEREIRA, M. M. Some new aspects related to the synthesis of *meso*-substituted porphyrins. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, Albuquerque, v. 28, p. 635-640, 1991.

GRYKO, D. T.; TASIOR, M. Simple route to *meso*-substituted *trans*-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>-porphyrins bearing pyridyl units. **Tetrahedron Letters**, Elmsford, v. 44, p. 3317-3321, 2003.

HAMBLIN, M. R.; O'DONNELL, D. A.; MURTHY, N.; RAJAGOPALAN, K.; MICHAUD, N.; SHERWOOD, M. E.; HASAN, T. Polycationic photosensitizer conjugates: effects of



chain length and Gram classification on the photodynamic inactivation of bacteria. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 49, p. 941-951, 2002.

HAMBLIN, M. R.; HASAN, T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? **Photochemical & Photobiological Sciences**, Cambridge, v. 3, p. 436-450, 2004.

HEVESI, L.; RENARD, M.; PROESS, G. Synthesis of meso-tetravinyl porphyrins through 1-selenoallyl cationic species. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**. 1725–1727, 1986.

HUANG, Q., FU, W. L., CHEN, B., HUANG, J. F., ZHANG, X., XUE, Q. Inactivation of dengue virus by methylene blue/ narrow bandwidth light system. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 77, p. 39-43, 2004.

ITOH, Y.; NINOMIYA, Y.; TAJIMA, S.; ISHIBASHI, A. Photodynamic therapy of acne vulgaris with topical  $\delta$ -aminolaevulinic acid and incoherent light in japanese patients. **British Journal of Dermatology**, Oxford, v. 144, p. 575-579, 2001.

JOHNSTONE, R. A. W.; NUNES, M. L. P. G.; PEREIRA, M. M.; GONSALVES, A. M. R.; SERRA, A. C. Improved syntheses of 5,10,15,20-tetrakisaryl-and tetrakisalkylporphyrins. **Heterocycles**. Sendai, v. 43, p. 1423-1437, 1996.

KHAN, A. T.; KHAN, M. M. Bromodimethylsulfonium bromide (BDMS) mediated dithioacetalization of carbohydrates under solvent-free conditions. **Carbohydrate Research**. Amsterdam, v. 345, p. 2139-2145, 2010.

KRÜLLE, T.; HOLST, O.; BRADE, H.; SCHMIDT, R. R. Synthesis of 3-deoxy-2-octulosonic acid derivatives and characterization of their 3-deoxyoctitols. **Carbohydrate Research**, v.247, p.145-158, 1993.

KVACHEVA, Z. B.; LOBANOK, E. S.; VOTIAKOV, V. I.; SHUKANOVA, N. A.; VOROBEL, A. V.; NIKOLAEVA, S. N.; TITOV, L. P. Photodynamic inhibition of

infection caused by herpes simplex virus type 1 in the cultured cells, by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins. **Voprosy Virusologii**, v. 50, p. 44-47, 2005.

KOMATSU, T.; OHMACHI, N.; NAKAGAWA, A.; ZUNSZAIN, P. A.; CURRY, S.; TSUCHIDA, E. O<sub>2</sub> and CO binding properties of artificial hemoproteins Formed by complexing iron protoporphyrin IX with human serum albumin mutants. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 127, p.15933-15942, 2005.

LAMBRECHTS, S. A. G.; AALDERS, M. C. G.; VERBRAAK, F. D.; LAGERBERG, J. W. M.; DANKERT, J. B.; SCHUITMAKER, J. J. Effect of albumin on the photodynamic inactivation of microorganismos by a cationic porphyrin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 79, p. 51-57, 2005.

LEE, C. H.; LINDSEY, J. S. One-flask synthesis of *meso*-substituted dipyrromethanes and their application in the synthesis of *trans*-substituted porphyrin building blocks. **Tetrahedron**, Oxford, v. 50, p. 11427-11440, 1994.

LEE, S. J.; HUPP J. T. Porphyrin- cointaining molecular squares: design and applications. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 250, p. 1710-1723, 2006.

LITTLER, B. J.; MILLER, M. A.; HUNG, C.; WAGNER, R. W.; O'SHEA, D. F.; BOYLE, P. D.; LINDSEY, J. S. Refined synthesis of 5-substituted dipyrromethanes. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 64, p. 1391-1396, 1999.

LIU, F.; DUAN, L.; WANG, Y.; ZHANG, Q.; WANG, J. Efficient synthesis of *meso*-tetraarylporphyrins using I<sub>2</sub> as catalyst and IBX as oxidant. **Synthetic Communications**, New York, v. 39, p. 3990-3998, 2009.

LÓ, S. M. S.; DUCATTI, D. R. B.; DUARTE, M. E. R.; BARREIRA, S. M. W.; NOSEDA, M. D.; GONÇALVES, A. G. Synthesis of *meso*- tetraarylporphyrins using SeO<sub>2</sub> as oxidant. **Tetrahedron Letters**, Elmsford, v. 52, p. 1441-1443, 2011.

LYNDSEY, J. S.; SCHREIMAN, I. C.; HSU, H. C.; KEARNEY, P. C.; MARGUERETTAZ, A. M. Rothemund and Adler-Longo reactions revisited: synthesis of tetraphenylporphyrins under equilibrium conditions. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 52, p. 827-836, 1987.

LYNDSEY, J. Synthetic routes to meso-patterned porphyrins. **Accounts of chemical research**. Washington, v. 43, p. 300-311, 2010.

MACHADO, A. E. H. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Química Nova**, v. 23, p.237- 243, 2000.

MALIK, Z.; LADAN, H.; NITZAN, Y. Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: problems and possible solutions. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 14, p. 262-266, 1992.

MARCH, J. **Advanced Organic Chemistry** , 4ªedição, Wiley, New York, 1992.

MERCHAT, M., BERTOLINI, G., GIACOMINI, P., VILLANUEVA, A., JORI, G. Meso-substituted cationic porphyrins as efficient photosensitizers of Gram-positive and Gram-negative bacteria. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 32, p. 153-157, 1996.

MILGROW, L. R.; YAHIOGLU. Trans-disubstituted *meso*-tetraethynylporphyrins. **Tetrahedron Letters**, Elmosford, v. 23, p. 4069-4072, 1996.

MILGROW L. R. **The colours of life**. Oxford: Oxford University Press, 1997.

MIKATA, Y.; ONCHI, Y.; TABATA, K.; OGURA, S. Sugar-dependent photocytotoxic property of tetra-and octa-glycoconjugated tetraphenylporphyrins. **Tetrahedron Letters**, Elmosford, v. 39, p. 4505-4508, 1998.

MIYOSHI, N.; OGASAWARA, T.; NAKANO, K.; TACHIHARA, R.; KANEKO, S.; SANO, K.; FUKUDA, M.; HISAZUMI, H. In light of recent developments, application of

fluorescence spectral analysis in tumor diagnosis. **Applied Spectroscopy Reviews**, New York, v. 39, p. 437-455, 2004.

MURAKAMI, Y.; KIKUCHI, J.; HISAEDA, Y.; HAYASHIDA, O. Artificial enzymes. **Chemical Reviews**, Washington, v. 96, p. 721-758, 1996.

NASCIMENTO, B. F. O.; GONSALVES, A. M. R.; PINEIRO, M.  $\text{MnO}_2$  instead of quinones as selective oxidant of tetrapyrrolic macrocycles. **Inorganic Chemistry Communications**. New York, v. 13, p. 395–398, 2010.

NITZAN, Y.; GUTTERMAN, M., MALIK, Z., EHRENBERG, B. Inactivation of Gram-negative bacteria by photosensitized porphyrins. **Photochemistry and Photobiology**, Cambridge, v. 55, p. 89-96, 1992.

PANDEY, R. K.; DOUGHERTY, T. J. **Galectin recognized photosensitizers for photodynamic therapy**, US 6,849,607 B2, 1 fevereiro 2005. Disponível em: <http://www.google.com/patents/US6849607> Acesso em: 14/01/2015.

PAPAZOGLU, T. G. Malignancies and atherosclerotic plaque diagnosis-is laser induced fluorescence spectroscopy the ultimate solution? **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 28, p. 3-11, 1995.

PARK, J. H.; MOON, Y. H.; BANG, I. S.; KIM, Y. C.; KIM, S. A.; AHN, S. G.; YOON, J. H. Antimicrobial effect of photodynamic therapy using highly pure chlorine e6. **Lasers in Medical Science**, v. 25, p. 705-710, 2010.

PENG, X.; GAO, C.; HUANG, Y.; PENG, J.; ARATANI, N.; OSUKA, A. Benzylic modifications of meso-alkyl-substituted porphyrins via oxidation with DDQ. **Tetrahedron Letters**. Elmsford, v. 53, p. 1156-1159, 2012.

PEREIRA, M. A.; FAUSTINO, M. A. F.; TOMÉ, J. P.C.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S.; CUNHA, A.; ALMEIDA, A. Influence on external bacterial structures on the efficiency of photodynamic inactivation by a cationic

porphyrin. **Photochemical & Photobiological Sciences**, Cambridge, v. 13, p. 680-690, 2014.

PEREIRA, P. M .R.; SILVA, S.; CAVALEIRO, J. A. S.; RIBEIRO, C. A. F.; TOMÉ, J. P. C.; FERNANDES, R. Galactodendritic phthalocyanine targets carbohydrate-binding proteins enhancing photodynamic therapy. **PlosOne**, v. 9, p. e95529, 2014.

PIRACCINI, B. M.; RECH, G.; TOSTI, A. Photodynamic therapy of onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*. **Journal of the American. Academy of Dermatology**, v. 59, p. S75-6, 2008.

PURRELLO, R.; GURRIERI S.; LAUCERI R. Porphyrin assemblies as chemical sensors. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 190-192, p. 683-706, 1999.

REBEIZ, C. A.; JUVIK, J. A.; REBEIZ, C. C.; BOUTON, C. E.; GUT, L. J. Porphyrin insecticides: 2. 1,10- phenanthroline, a potent porphyrin insecticide modulator. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 36, p. 201-207, 1990.

ROBERTS, J. C.; NAGASAWA, H. T.; ZERA, R. T.; FRICKE, R. F.; GOON, D. J. W. Prodrugs of L-cysteine as protective agents against acetaminophen-induced hepatotoxicity. 2- (polyhydroxyalkyl)- and 2-(polyacetoxyalkyl)thiazolidine-4(R)-carboxylic acid. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 30, p. 1891-1896, 1987.

ROCKSON, S. G.; LORENZ, D. P.; CHEONG, W. F.; WOODBURN, K. W. Photoangioplasty: an emerging clinical cardiovascular role for photodynamic therapy. **Circulation**, Baltimore, v. 102, p. 591-596, 2000.

ROITMAN, L.; EHRENBERG, B.; KOBAYASHI, N. Spectral properties and absolute determination of singlet oxygen production by naphthaloporphyrins. **J. Photochem. Photobiol. A Chem.**, v. 77, p. 23-28, 1994.

ROTHEMUND, P. A new porphyrin synthesis. The synthesis of porphin. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 58, p. 625-627, 1936.

ROTHEMUND, P. Porphyrin studies. III. The structure of the porphine ring system. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 61, p. 2912- 2915, 1939.

RUZIÉ, C.; MICHAUDET, L.; BOITREL, B. Synthesis of a new bis-pyridyl crown-capped porphyrin. **Tetrahedron Letters**, Elmosford, v. 43, p. 7423-7426, 2002.

SANTUS, R.; GRELLIER, P.; SCHRÉVEL, J.; MAazière, J. C.; Stoltz, J. F. Photodecontamination of blood components: advantages and drawbacks. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v.18, p. 299-308, 1998.

SERGEEVA, N. N.; BAKAR, M. B.; SENGUE, M. O. Synthesis, transformations, and comparative studies of porphyrin acrylic acids and their homologues. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 74, p. 1488-1497, 2009.

SHI, X-X; KHANAPURE, S. P.; ROKACH, J. Deblocking of dithioacetals and oxathioacetals using periodic acid under mild nonaqueous conditions. **Tetrahedron Letters**, Elmosford, v. 37, p. 4331-4334, 1996.

SILVA, A. M. G.; TOMÉ, A. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; SILVA, A. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S. Meso-tetraarylporphyrins as dipolarophiles in 1,3-dipolar cycloaddition reactions. **Chemical Communications**, p. 1767- 1768, 1999.

SILVA, A. M. G.; LACERDA, P. S. S.; TOMÉ, A. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; SILVA, A. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S.; MAKAROVA, E. A.; LUKYANETS, E. A. Porphyrins in 1,3-dipolar cycloaddition reactions. Synthesis of new porphyrins-chlorin and porphyrin-tetraazachlorin dyads. **Journal Organic Chemistry**. V. 71. P. 8352-8356, 2006.

SILVA, P.; FONSECA, S. M.; ARRANJA, C. T.; BURROWS, H. D.; URBANO, A. M.; SOBRAL, A. J. F. N. A New Nonconjugated Naphthalene Derivative of Meso-tetra-(3-hydroxy)-phenylporphyrins a Potential Sensitizer for Photodynamic Therapy. **Photochemistry and Photobiology**, v. 86, p. 1147-1153, 2010.

SIMONNEAUX, G.; MAUX, P. L.; FERRAND, Y.; RAULT-BERTHELOT, J. Asymmetric heterogeneous catalysis by metalloporphyrins. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 250, p. 2212- 2221, 2006.

SMIJS, T. G. M.; VAN DER HAAS, R. N. S.; LUGTENBURG, J.; LIU, Y.; JONG, R. L. P.; SCHUITMAKER, H. J. Photodynamic treatment of the dermatophyte *Trichophyton rubrum* and *Microconidia* with porphyrin photosensitizers. **Photochemistry and Photobiology**, Oxford, v. 80, p. 197-202, 2004.

SMITH, K.M. **Porphyrins and metalloporphyrins**, K.M. Smith, Ed., Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdã, cap. 1, 1975.

SOL, V.; BRANLAND, P.; GRANET, R.; KALDAPA, C.; VERNEUIL, B.; KRAUSZ, P. Nitroglycosylated *meso*-arylporphyrins as photoinhibitors of Gram positive bacteria. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. New York, v. 8, p. 3007-3010, 1998.

STERNBERG, E. D.; DOLPHIN D. Porphyrin-based photosensitizers for use in photodynamic therapy. **Tetrahedron**. Oxford, v. 54, p. 4151-4202, 1998.

STILL, W. C.; KAHN, M.; MITRA. A. Rapid chromatography technique for preparative separations with moderate resolution. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 43, p. 2923-2925, 1978.

TAKANAMI, T.; HAYASHI, S.; ISO, K.; MATSUMOTO, J.; HINO, F. An efficient one-pot protocol for asymmetric bifunctionalization of 5,15-disubstituted porphyrins: direct Access to *meso* activated alkenyl-substituted *meso*-formylporphyrins. **Tetrahedron Letters**, Elmosford, v. 52, p. 5345-5348, 2011.

TOMÉ, J. P. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S.; MENDONÇA, A. F.; PEGADO, I. N.; DUARTE, R.; VALDEIRAB, M. L. Synthesis of glycoporphyrin derivatives and their antiviral activity against herpes simplex virus types 1 and 2. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 13, p. 3878-3888, 2005.

TOMÉ, J. P. C.; SILVA, E. M. P.; PEREIRA, A. M. V. M.; ALONSO, C. M. A.; FAUSTINO, M. A. F.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S.; TAVARES, S. A. P.; DUARTE, R. R.; CAEIRO, M. F.; VALDEIRA, M. L. Synthesis of neutral and cationic tripyridylporphyrin-D-galactose conjugates and photoinactivation of HSV-1. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 15, p. 4705-4713, 2007.

TRANNOY, L. L.; LAGERBERG, J. W. M.; DUBBELMAN, T. M. A. R.; SCHUITMAKER, H. J.; BRAND, A. Positively charged porphyrins: a new series of photosensitizers for sterilization of RBCs. **Transfusion**, Malden, v. 44, p. 1186-1196, 2004.

TRAUNER, K. B.; HASAN, T. Photodynamic treatment of rheumatoid and inflammatory arthritis. **Photochemistry and photobiology**, Oxford, v. 64, p. 740-750, 1996.

VALDUGA, G., BERTOLONI, G., REDDI, E., JORI, G. Effect of extracellularly generated singlet oxygen on Gram-positive and Gram-negative bacteria. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 21 p. 81-86, 1993.

VEDACHALAM, S.; CHOI, B. H.; PASUNOOTI, K. K.; CHING, K. M.; LEE, K.; YOON, H. S.; LIU, X. W. Glycosylated porphyrin derivatives and their photodynamic activity in cancer cells. **Medicinal Chemistry Communications**. v.2, p. 371-377, 2011.

VZOROV, A. N.; DIXON, D. W.; TROMMEL, J. S.; MARZILLI, L. G.; COMPANS, R. W. Inactivation of human immunodeficiency virus Type 1 by Porphyrins. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v. 46, p. 3917-3925, 2002.

YAMAMOTO, H.; OKUNAKA, T.; FURUKAWA, K.; HIYOSHI, T.; KONAKA, C.; KATO, H. Photodynamic therapy for cancers. **Current Science**. v. 77, p. 894- 906, 1999.

WAINWRIGHT, M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 42, p. 13-28, 1998.



WAINWRIGHT, M. The emerging chemistry of blood product disinfection. **Chemical Society Reviews**, London, v. 31, p. 128-136, 2002.

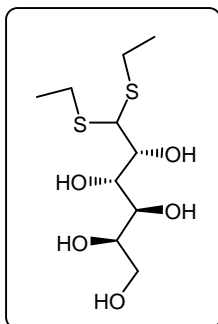
WAINWRIGHT, M.; MOHR, H.; WALKER, W. H. Phenothiazinium derivatives for pathogen inactivation in blood products. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 86, p. 45-58, 2007.

WANG, Q. M.; BRUCE, D. W. Synthesis of calamitic liquid crystalline porphyrins with lateral aromatic branches. **Tetrahedron Letters**, Elmsford, v. 37, p. 7641-7644, 1996.

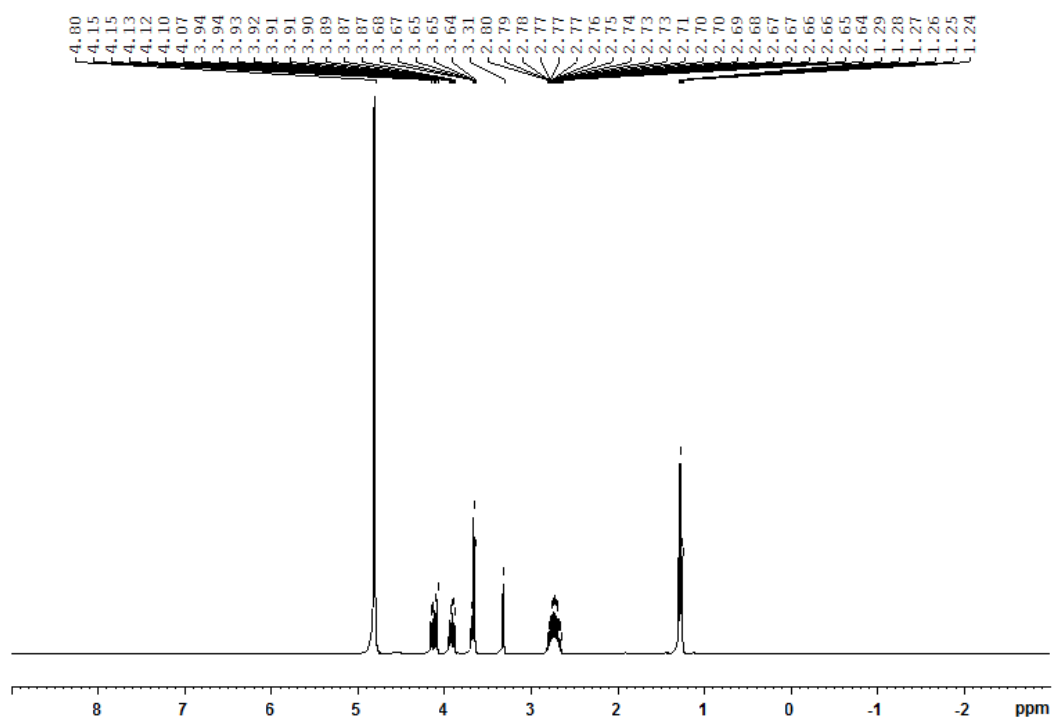
ZHENG, X.; PANDEY, R. K. Porphyrin-carbohydrate conjugates: impact of carbohydrate moieties in photodynamic therapy (PDT). **Anti-cancer agents in medicinal chemistry**, v. 8, p. 241-268, 2008.

## **ANEXO**

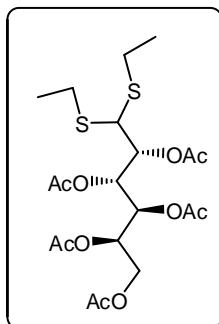
Composto **2**: Galactose dietilditioacetal



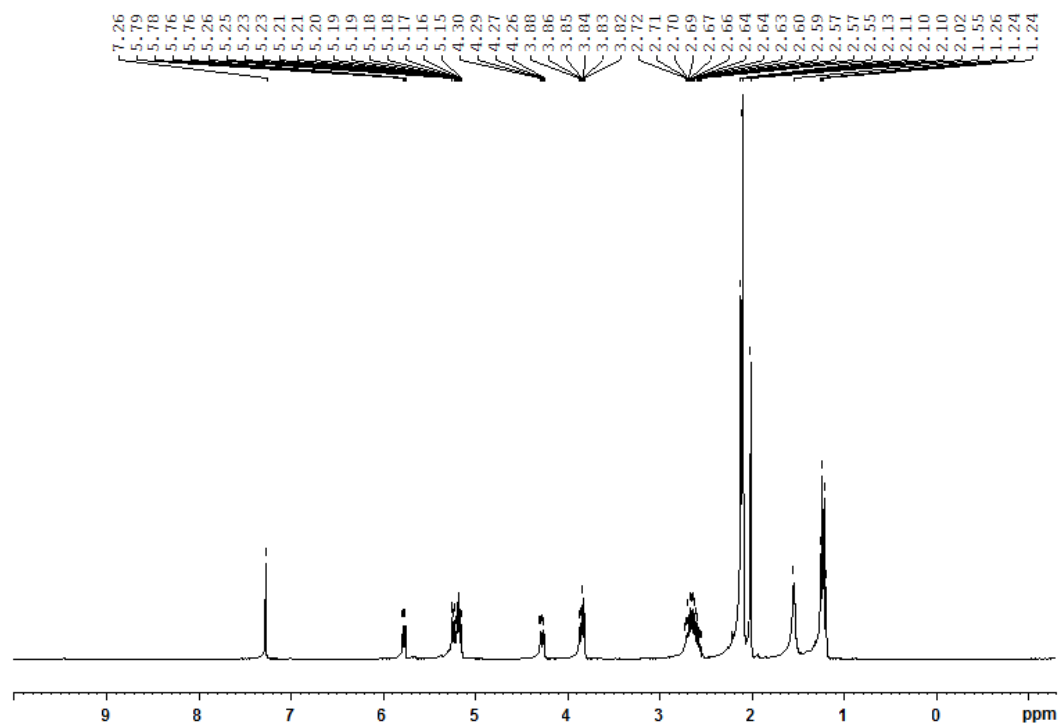
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **2**:



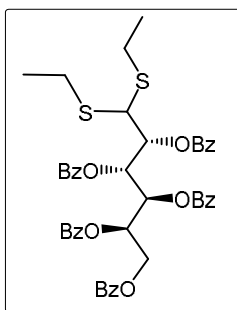
Composto **3**: 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-galactose dietilditioacetal



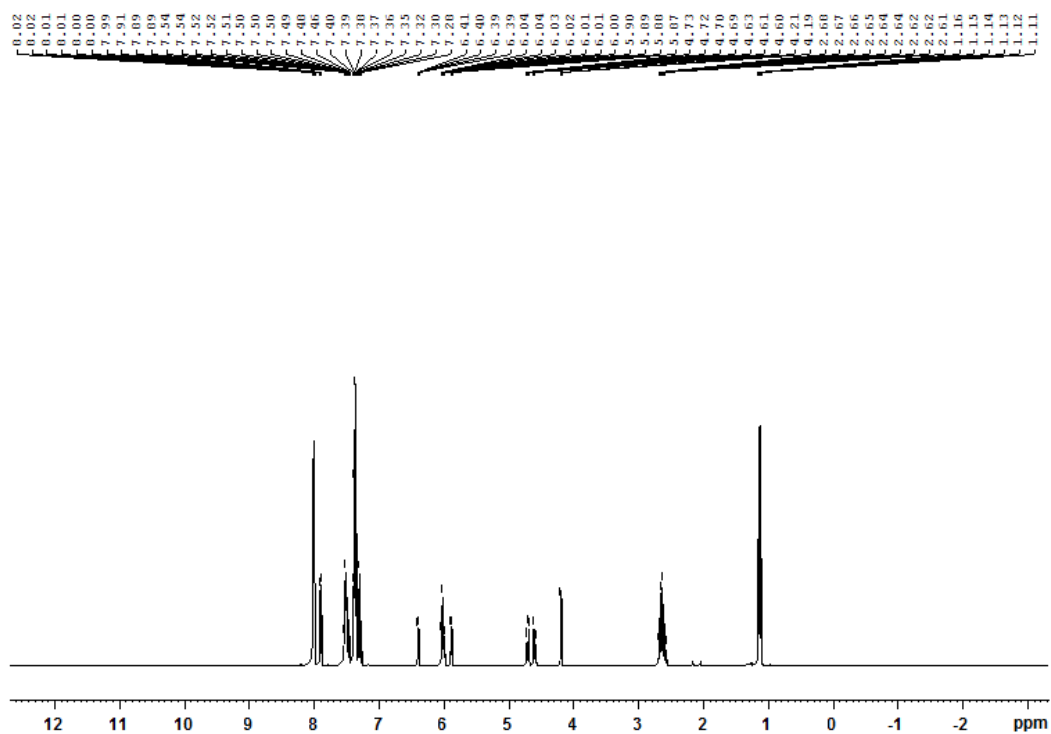
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **3**:



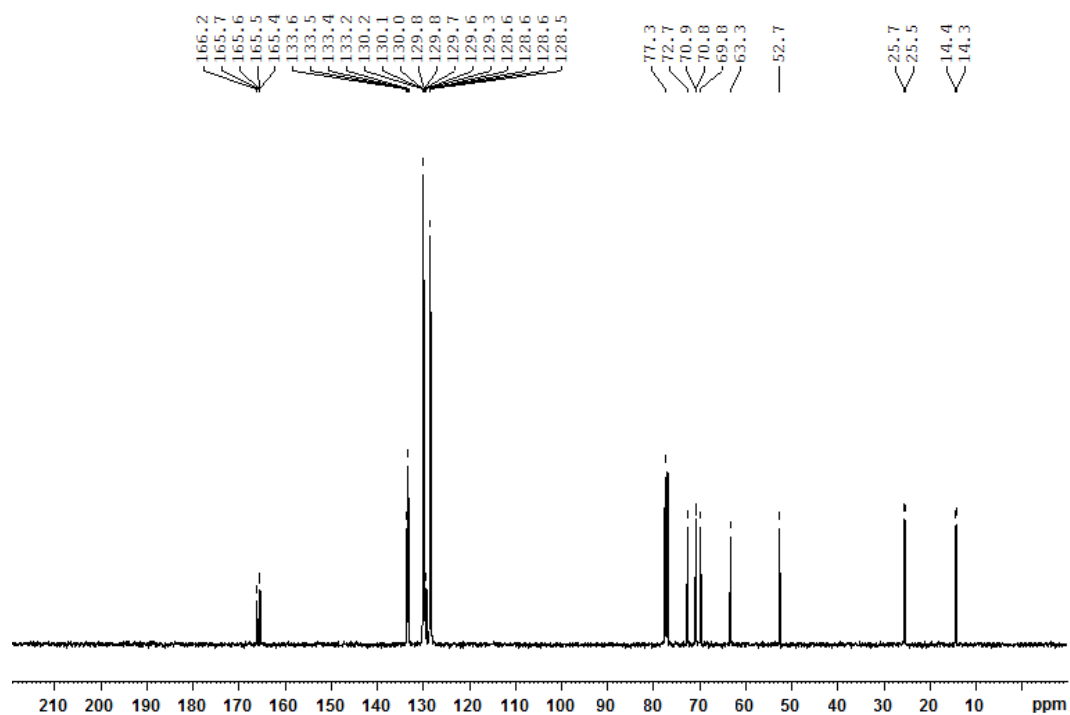
Composto **4**: 2,3,4,5,6-penta-*O*-benzoil-D-galactose dietilditioacetal



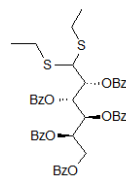
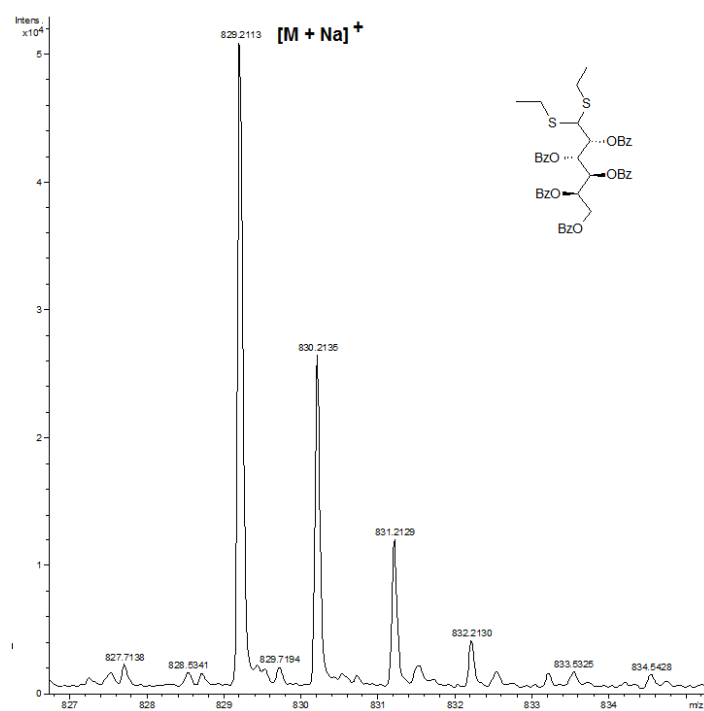
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **4**:



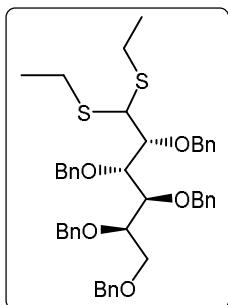
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **4**:



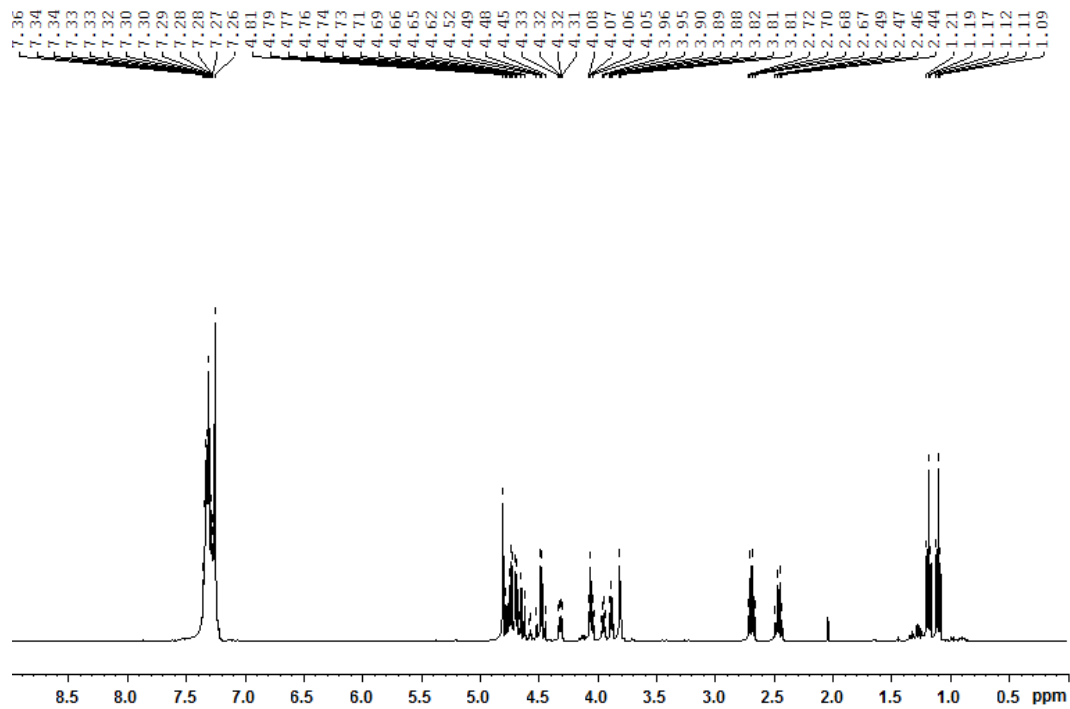
HRMS (ESI) do composto **4**:



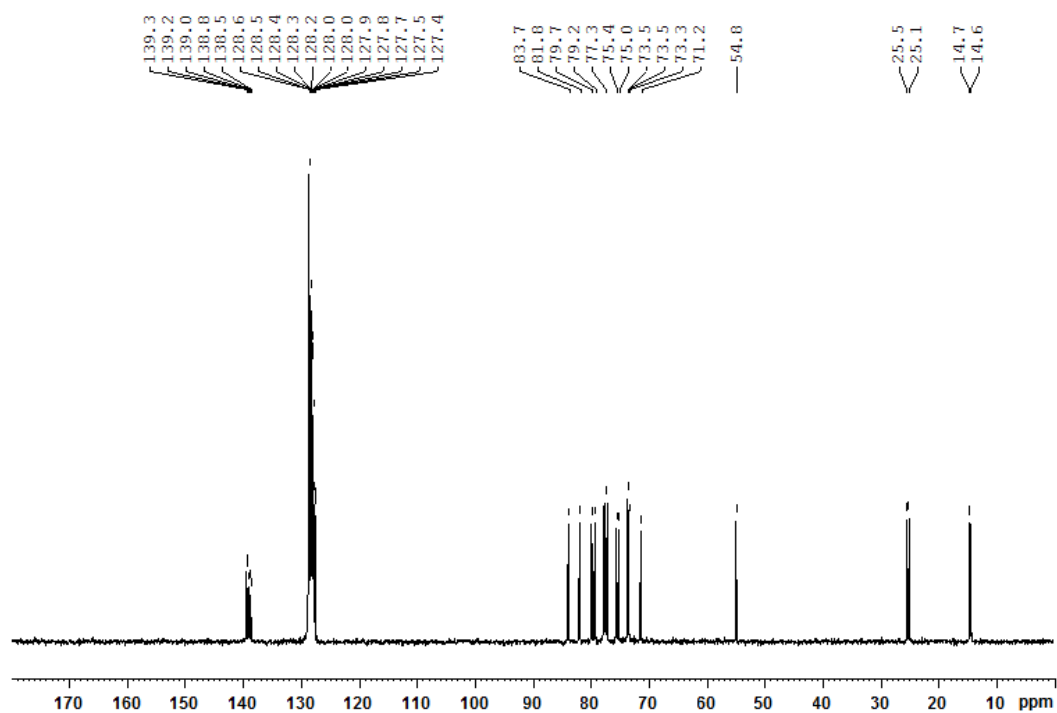
Composto **5**: 2,3,4,5,6-penta-*O*-benzil-D-galactose dietilditioacetal



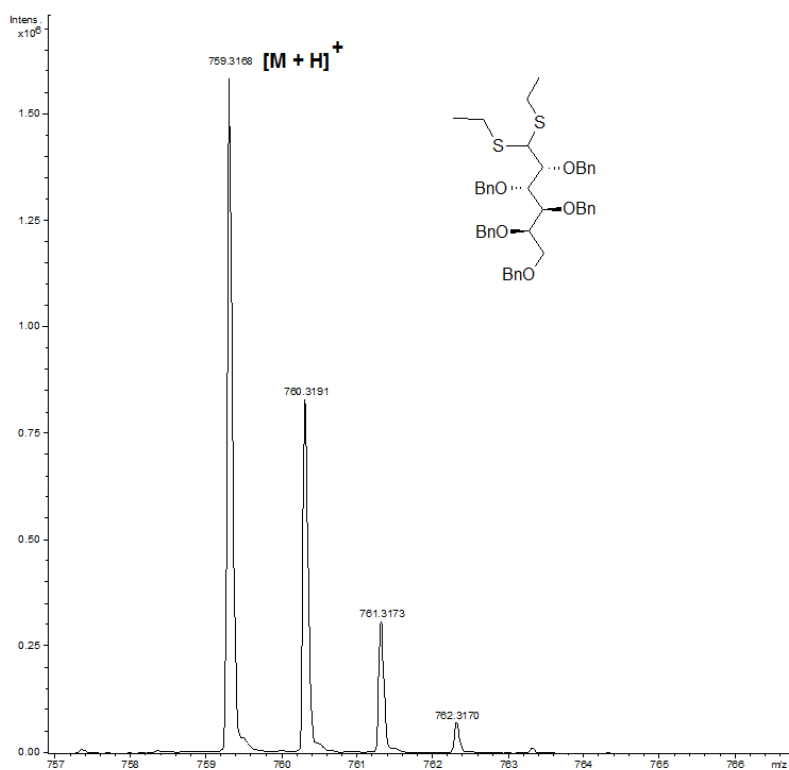
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **5**:



RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **5**:

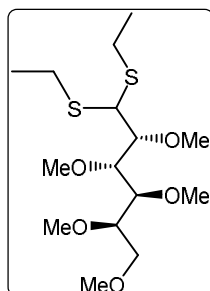


HRMS (ESI) do composto **5**:

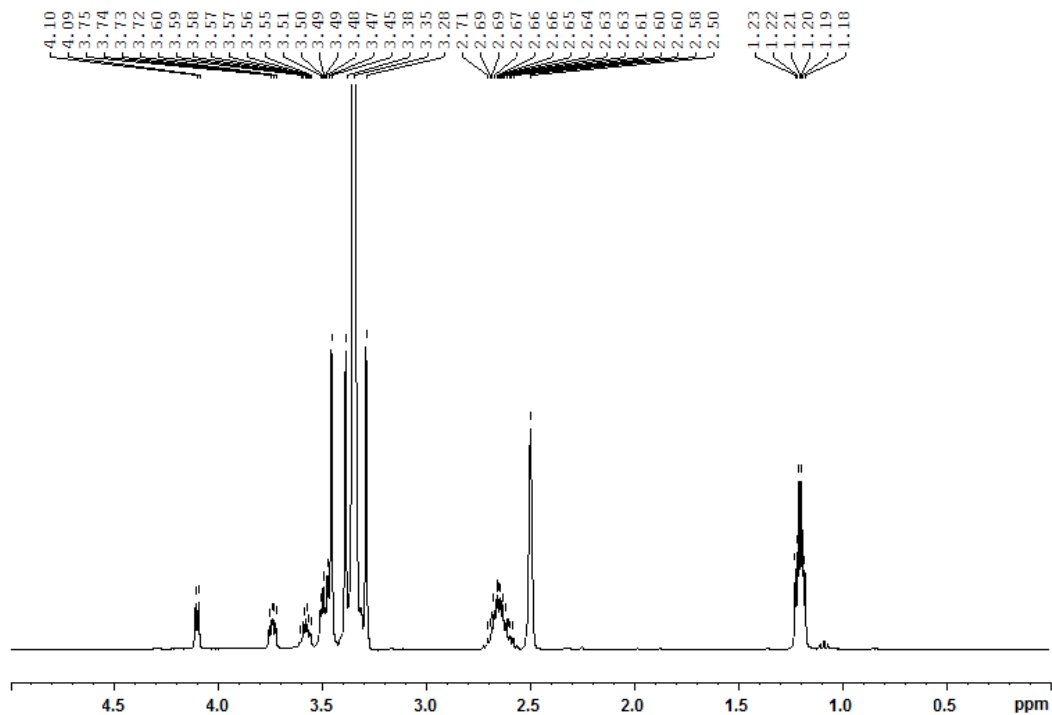




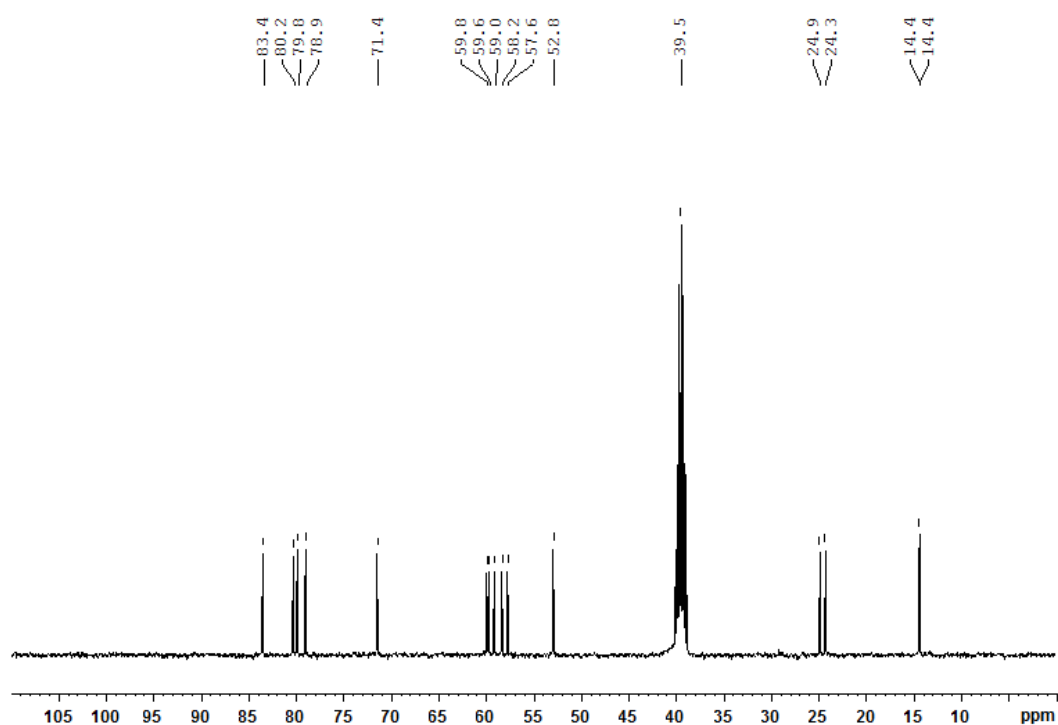
Composto **6**: 2,3,4,5,6-penta-O-metil-D-galactose dietilditioacetal



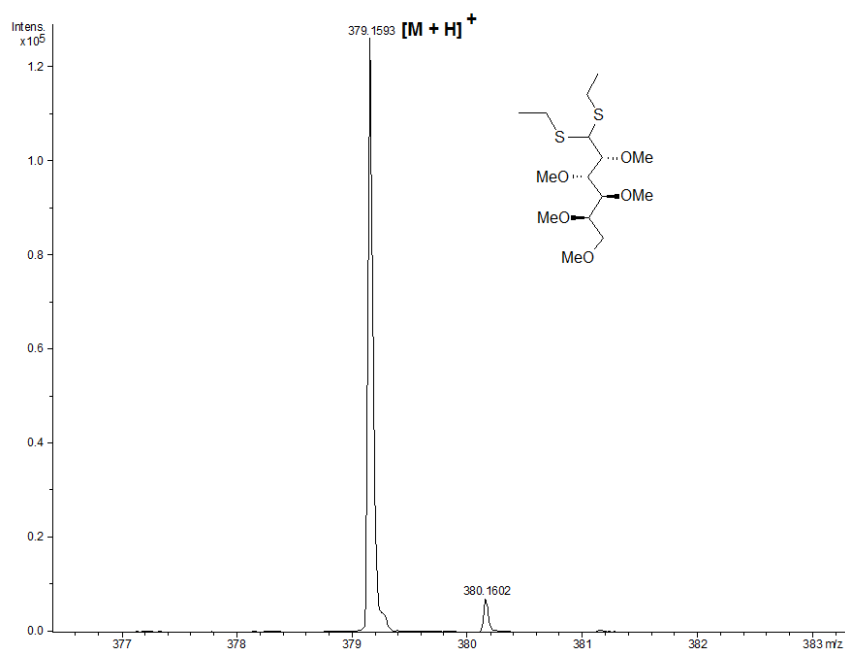
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **6**:



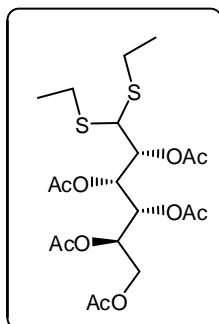
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **6**:



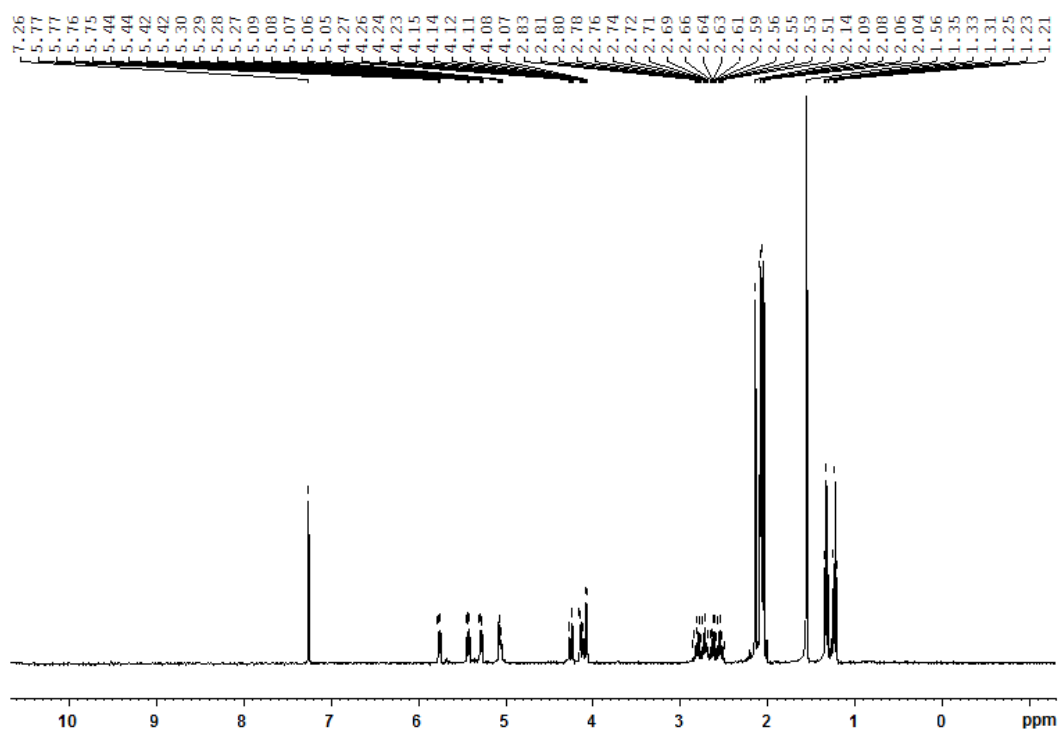
HRMS (ESI) do composto **6**:



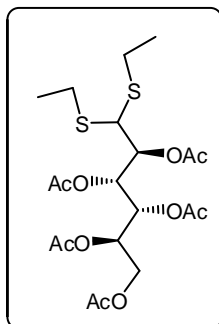
Composto **8**: 2,3,4,5,6-penta-*O*-acetil-D-glucose dietilditioacetal



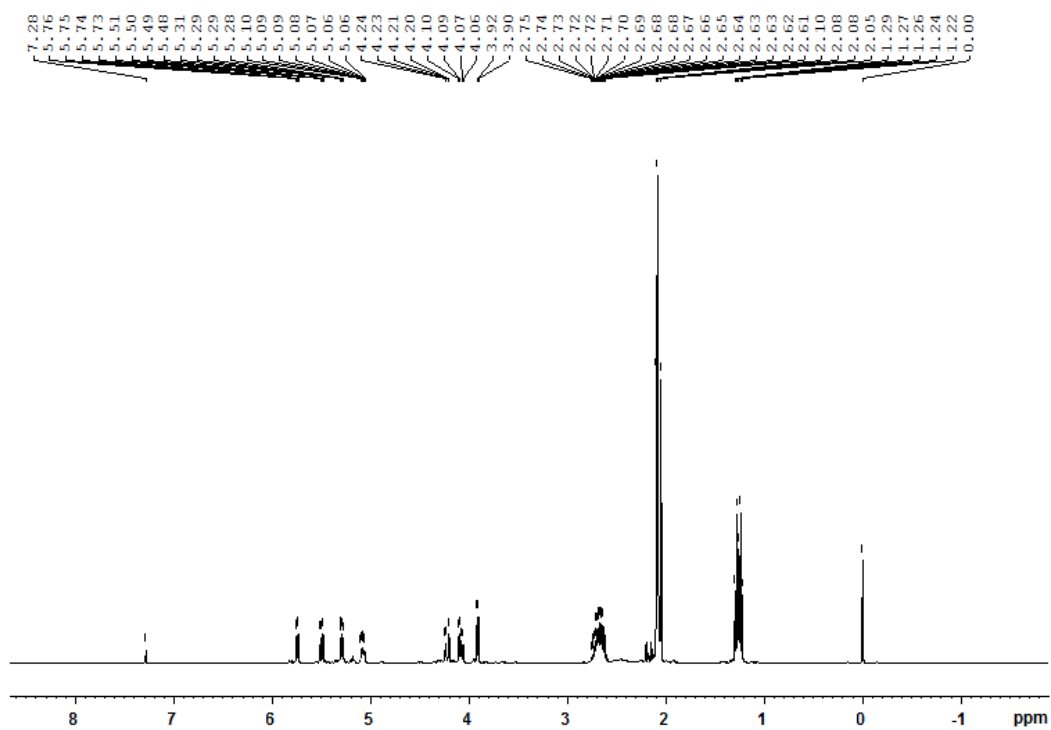
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **8**:



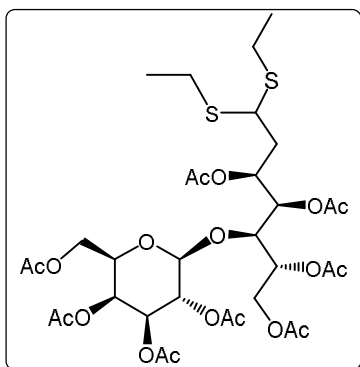
Composto **10**: 2,3,4,5,6-penta-*O*-acetil-D-manose dietilditioacetil



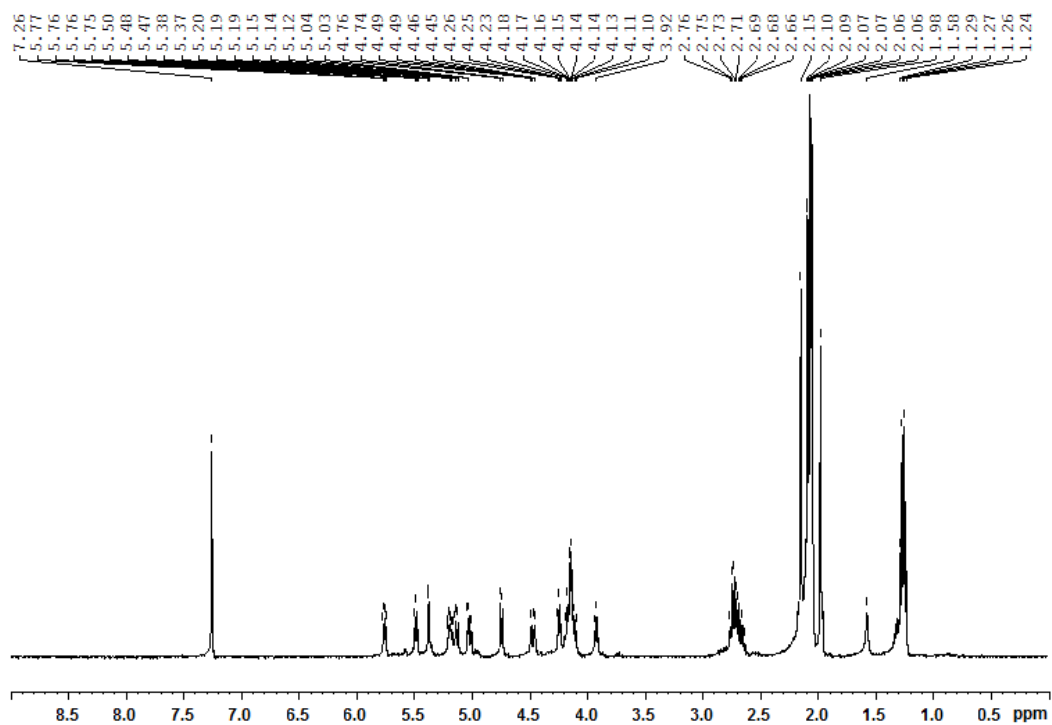
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **10**:



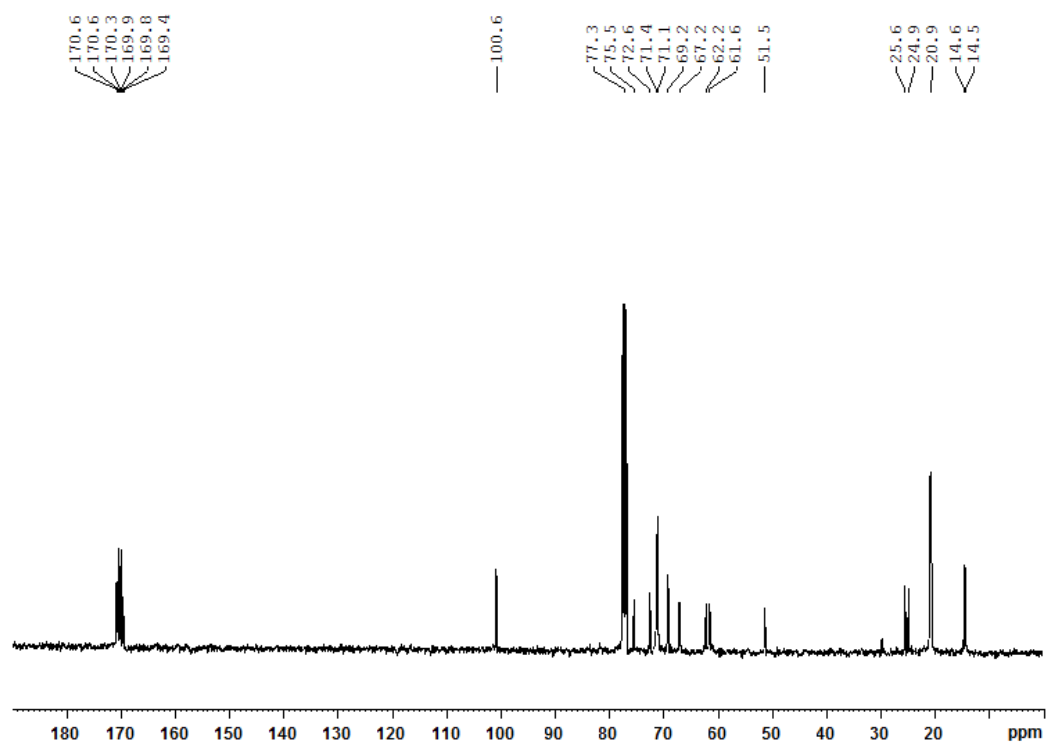
Composto **12**: 2,3,4,6-Tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,5,6-Tetra-O-acetil-D-glucose dietilditioacetal



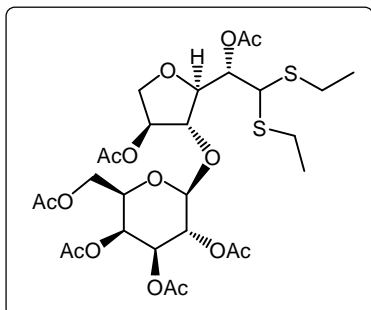
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **12**:



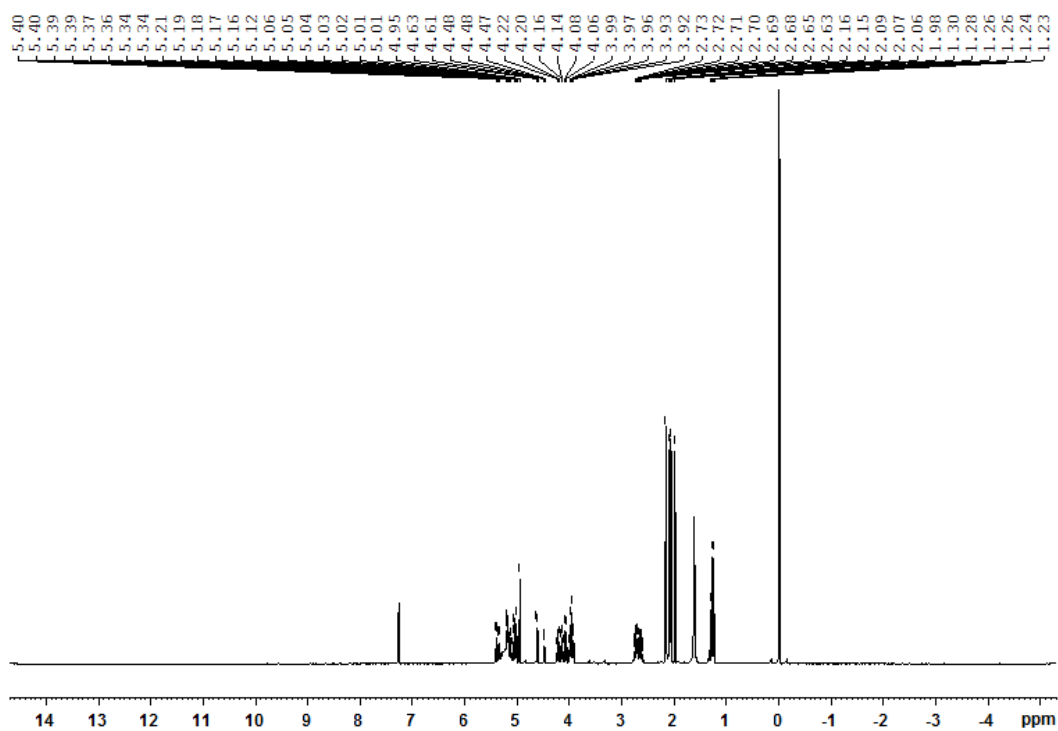
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **12**:



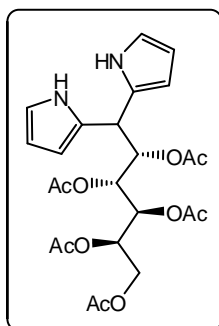
Composto **15**: 2,3,4,6-Tetra- O-acetil- $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,5-di- O-acetil-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal



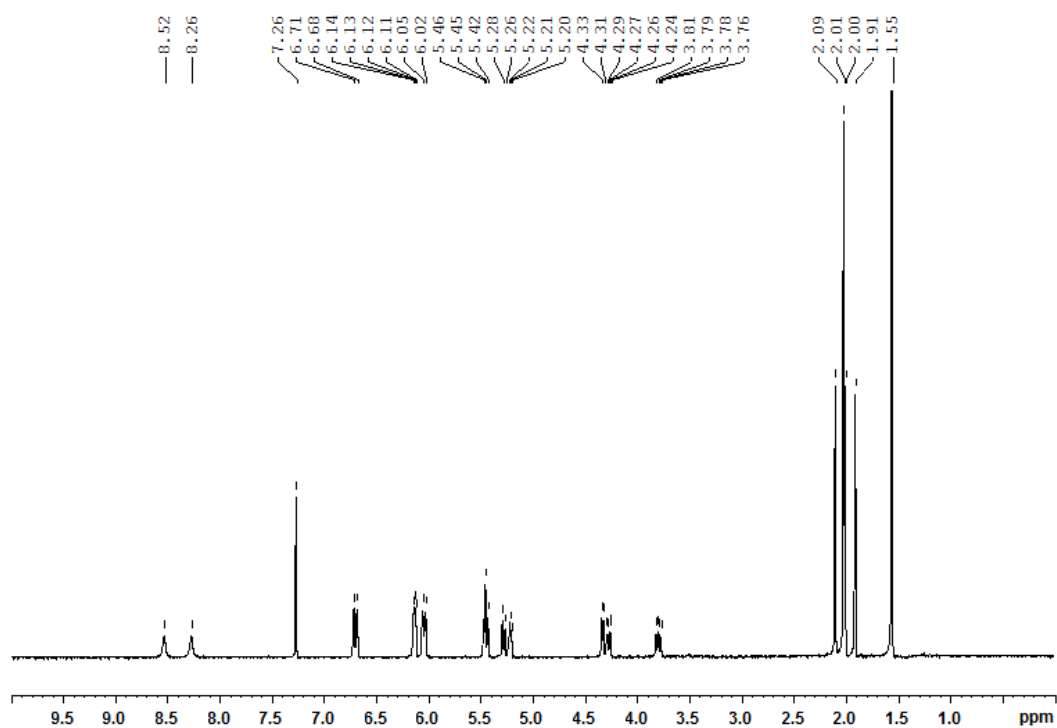
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **15**:



Composto **24**: 2,3,4,5,6-penta-*O*-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol

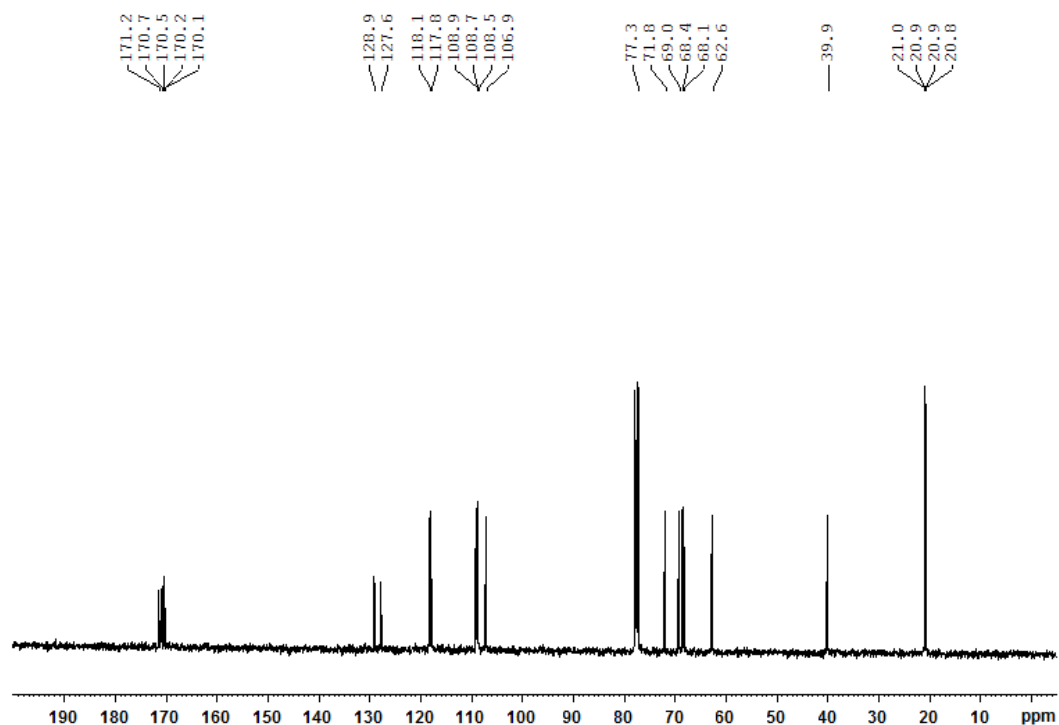


RMN de  $^1\text{H}$  do composto **24**:

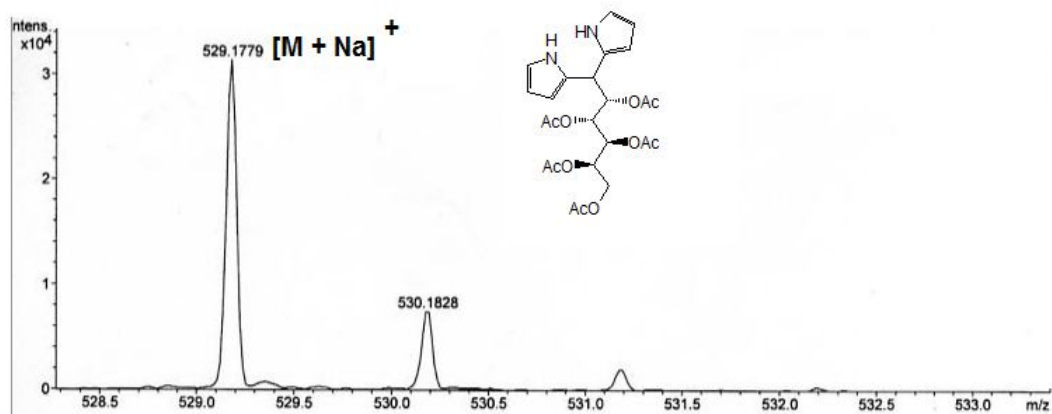




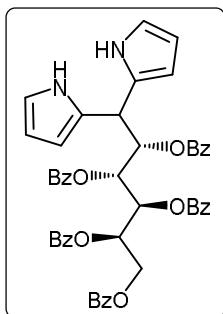
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **24**:



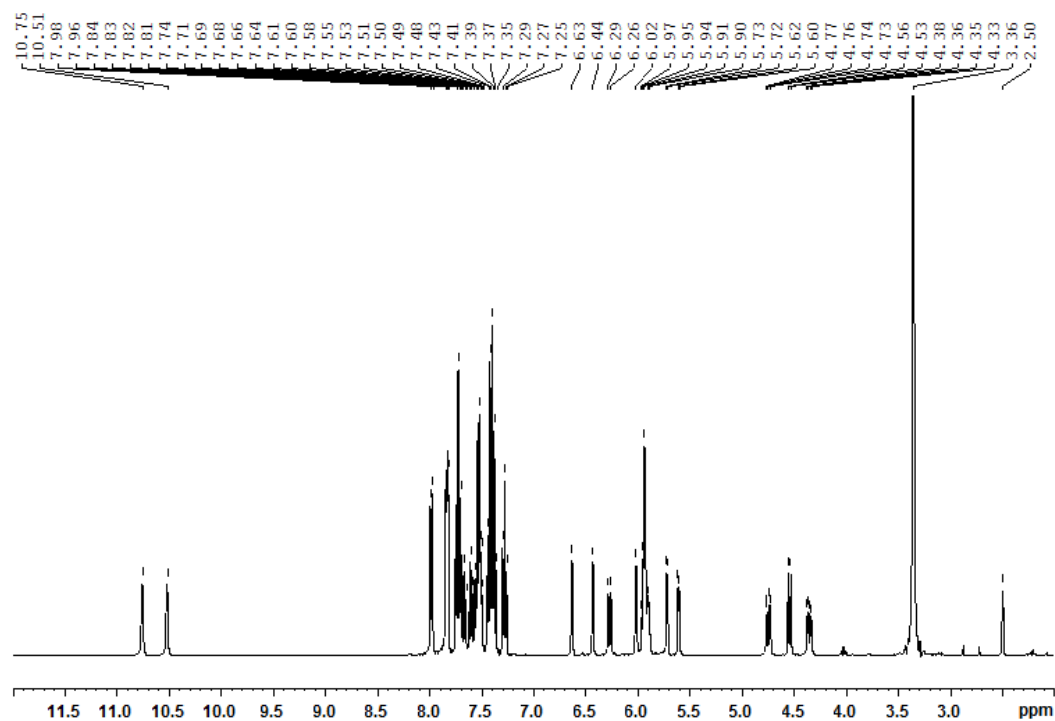
HRMS (ESI) do composto **24**:



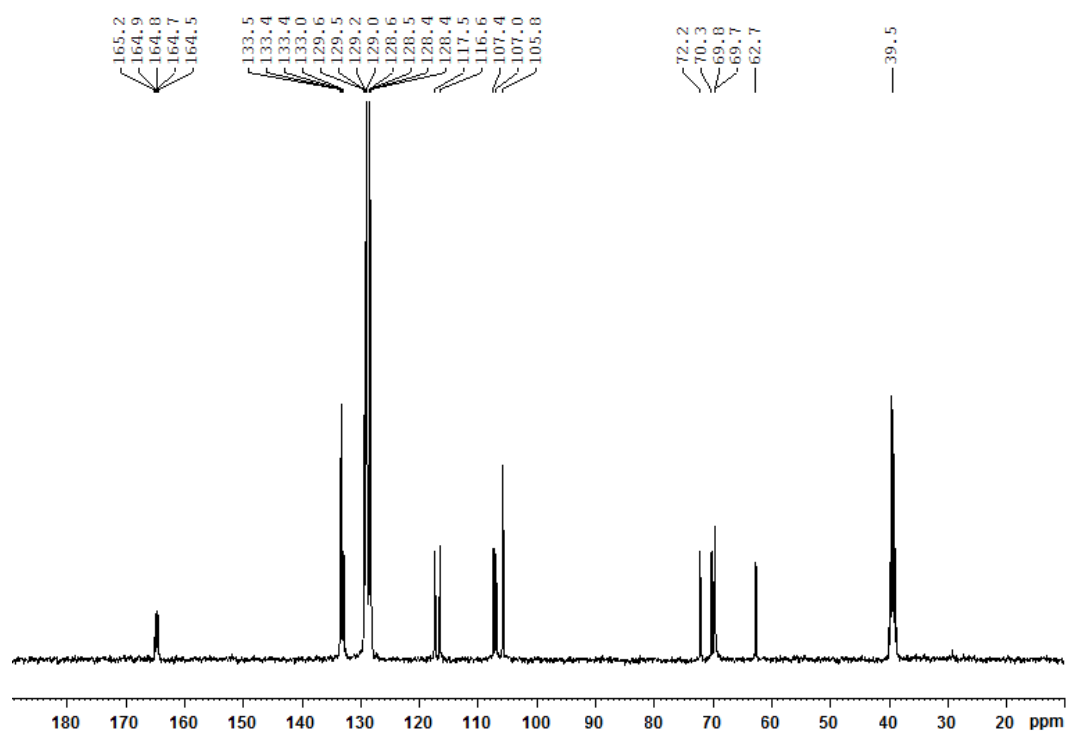
Composto **25**: 2,3,4,5,6-penta-*O*-benzoil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol



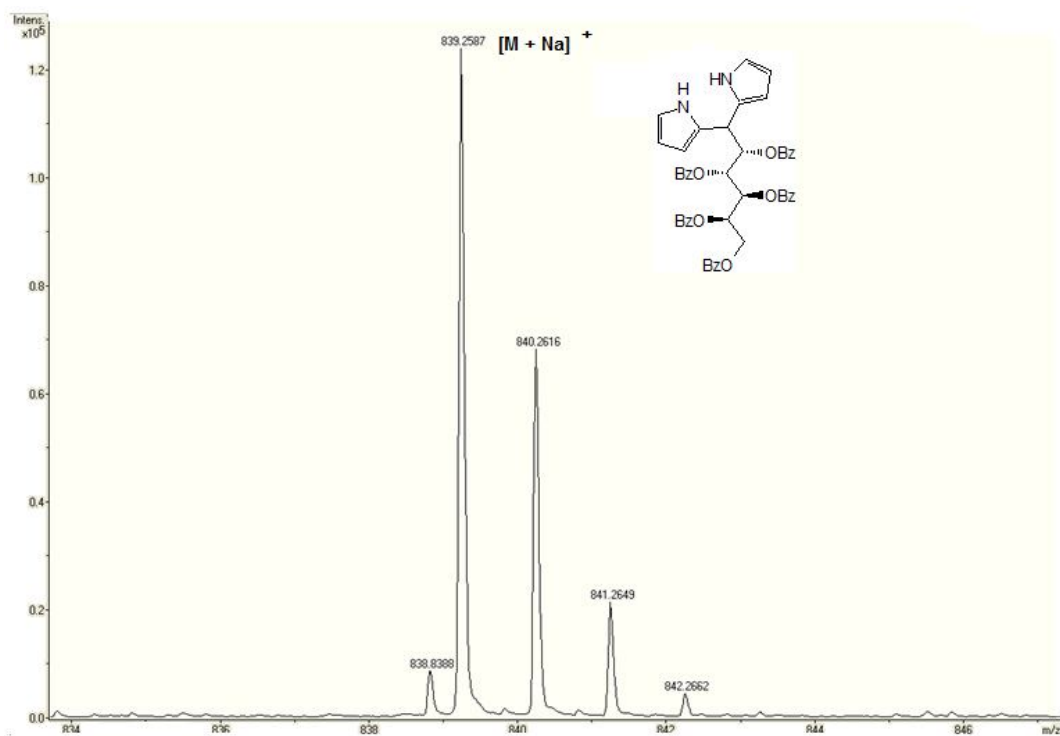
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **25**:



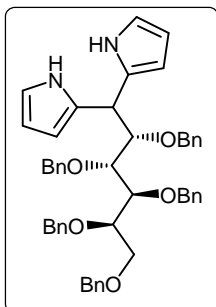
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **25**:



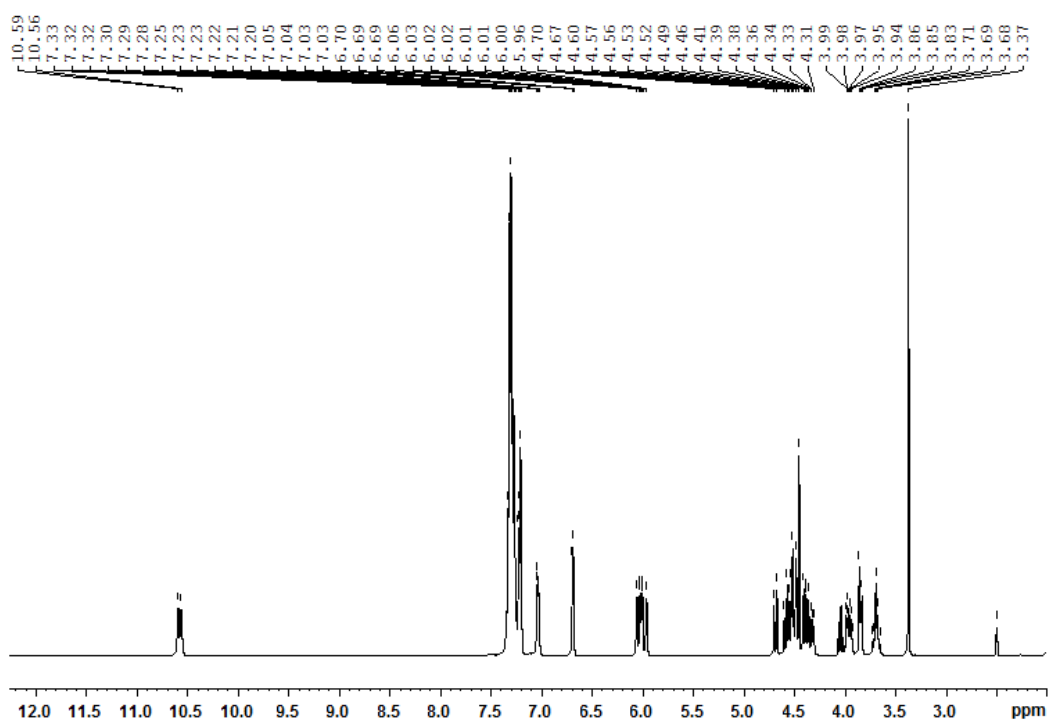
HRMS (ESI) do composto **25**:



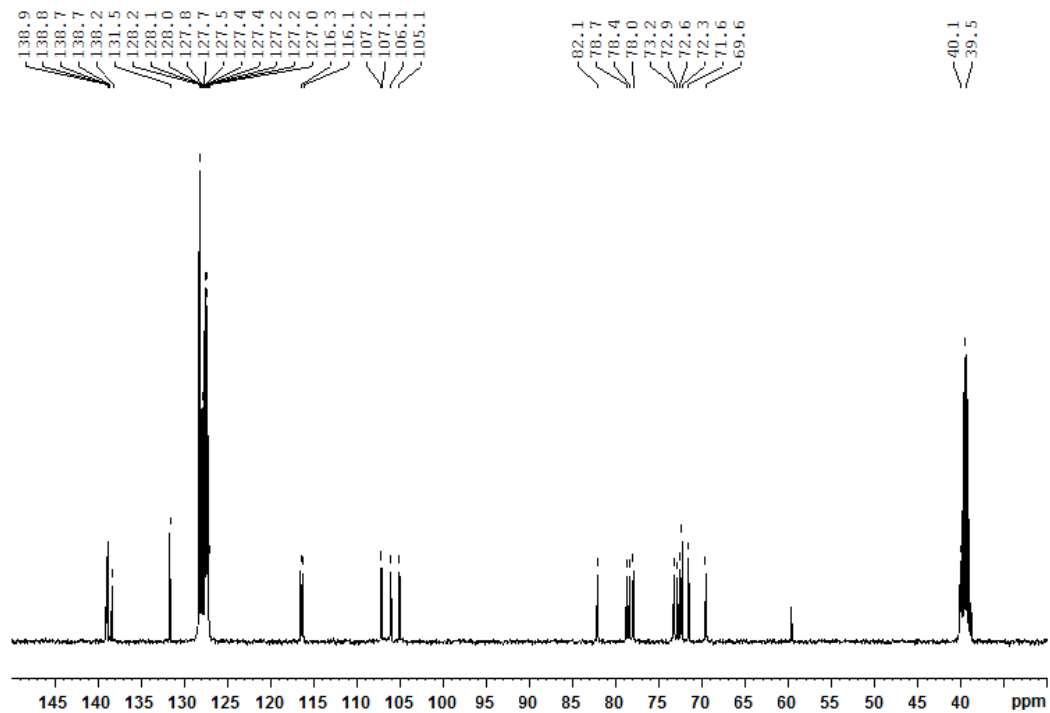
Composto **26**: 2,3,4,5,6-penta-*O*-benzil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol



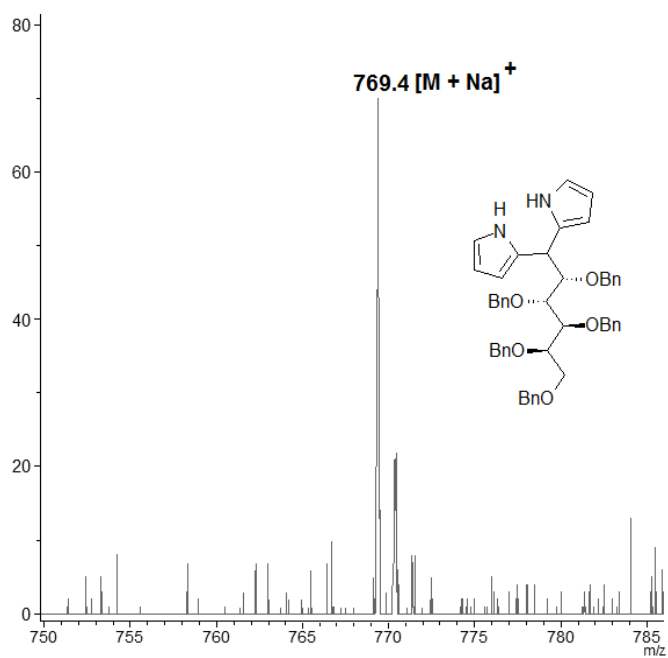
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **26**:



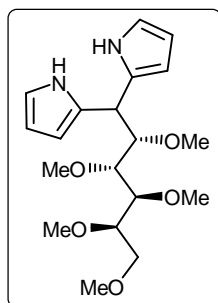
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **26**:



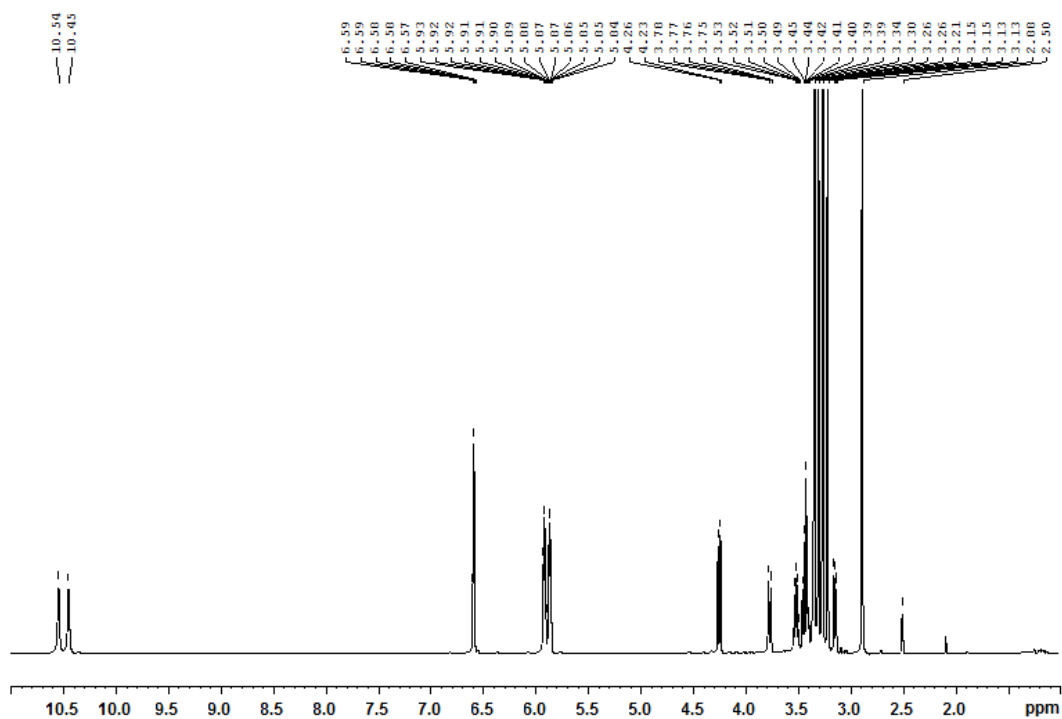
MALDI-TOF do composto **26**:



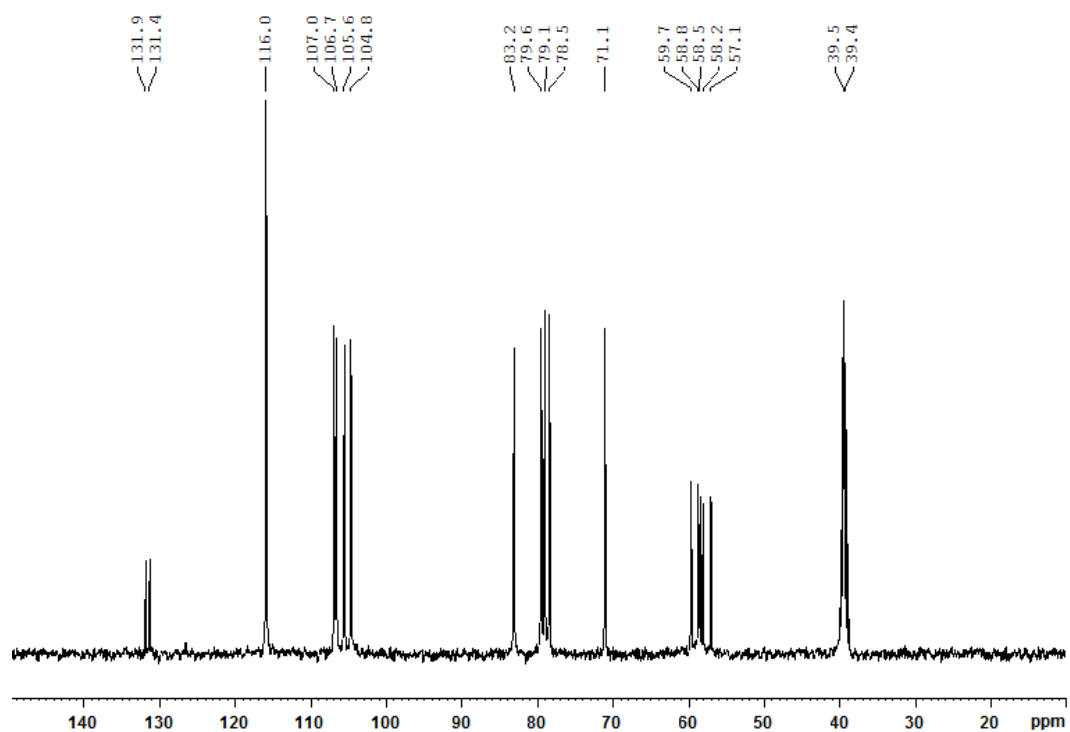
Composto **27**: 2,3,4,5,6-penta-*O*-metil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-galactitol



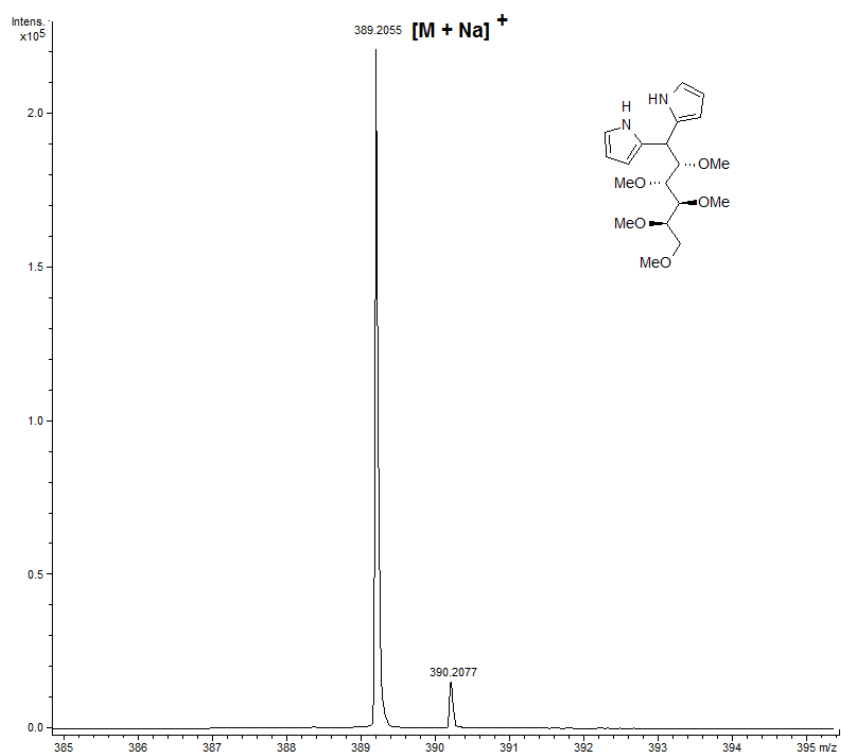
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **27**:



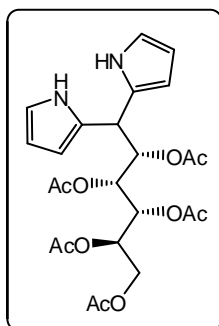
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **27**:



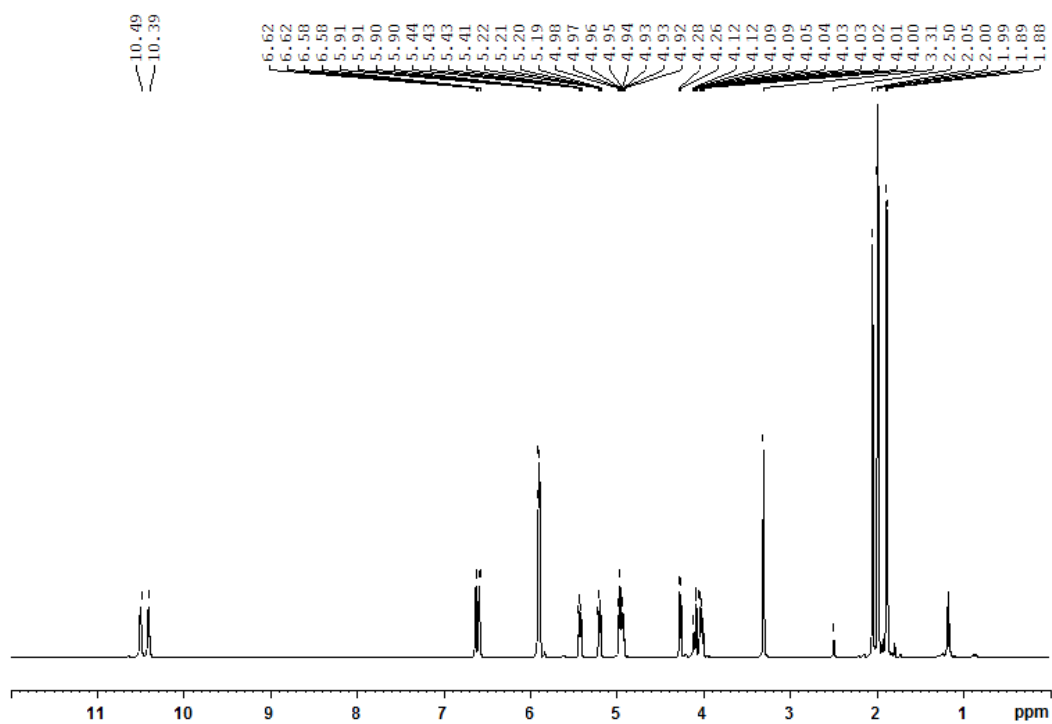
HRMS (ESI) do composto **27**:



Composto **28**: 2,3,4,5,6-penta-*O*-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-glucitol

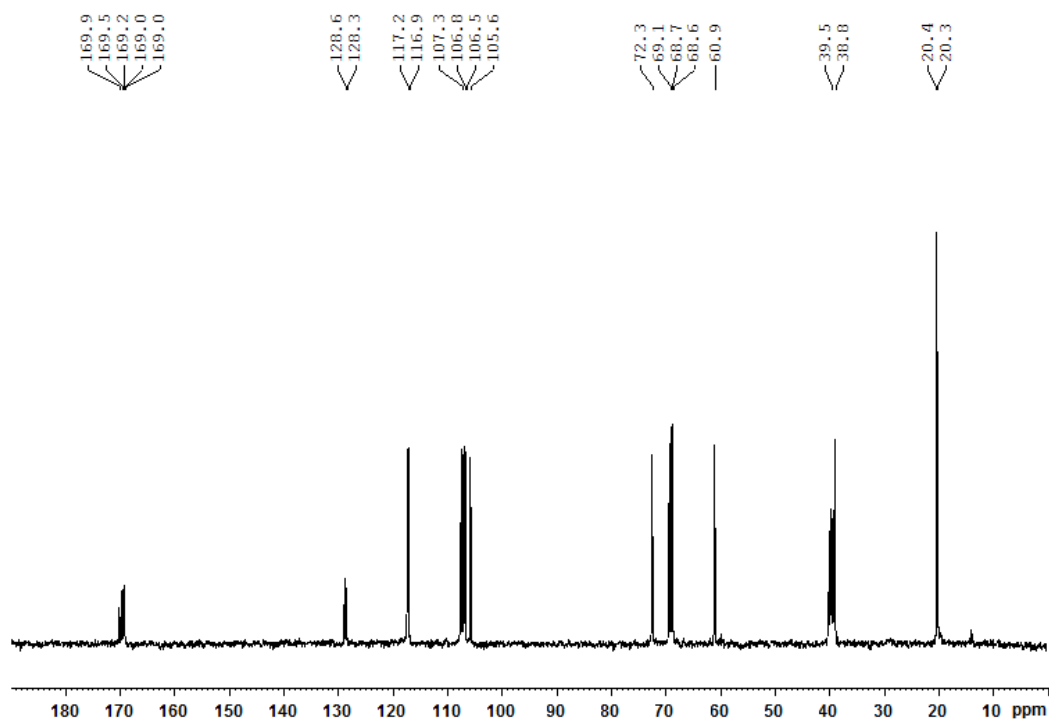


RMN de  $^1\text{H}$  do composto **28**:

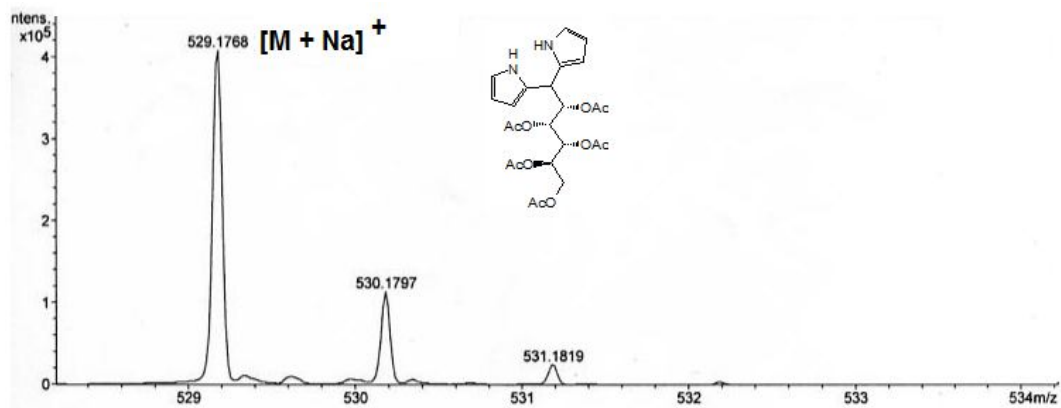




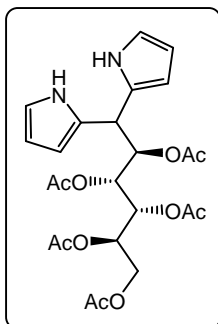
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **28**:



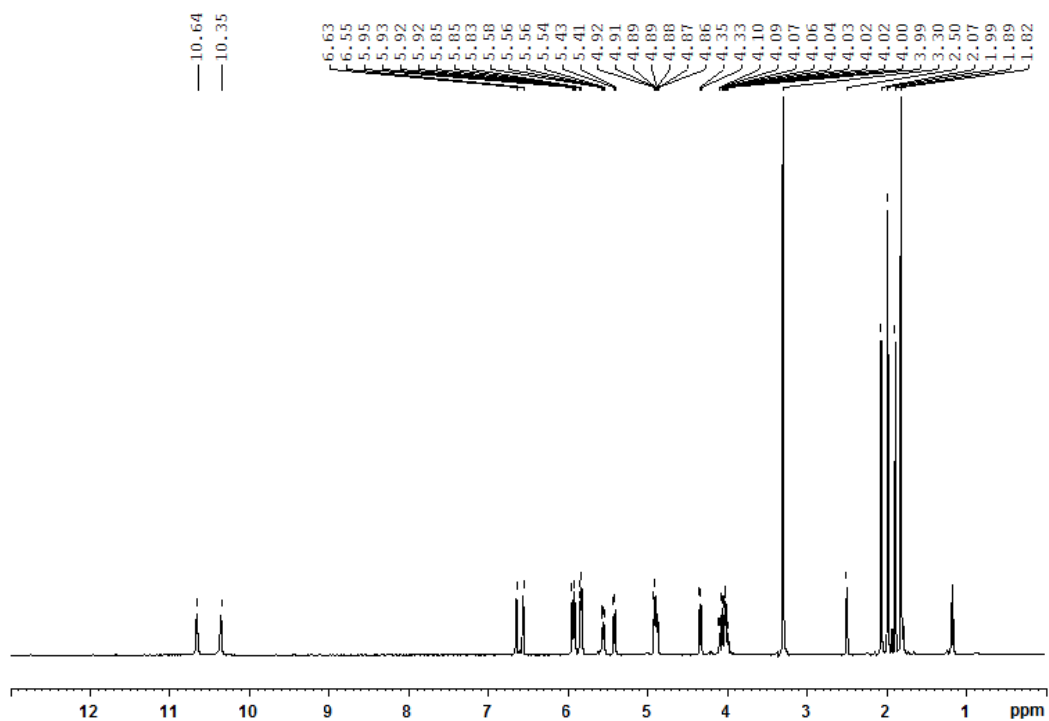
HRMS (ESI) do composto **28**:



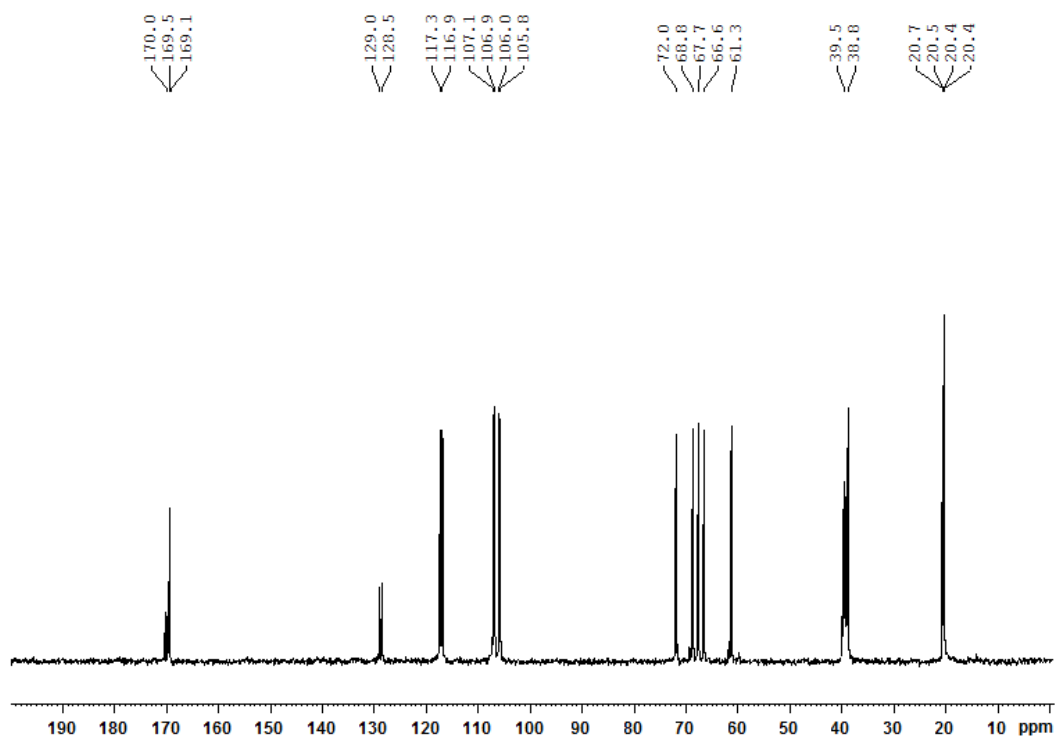
Composto **29**: 2,3,4,5,6-penta-*O*-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-manitol



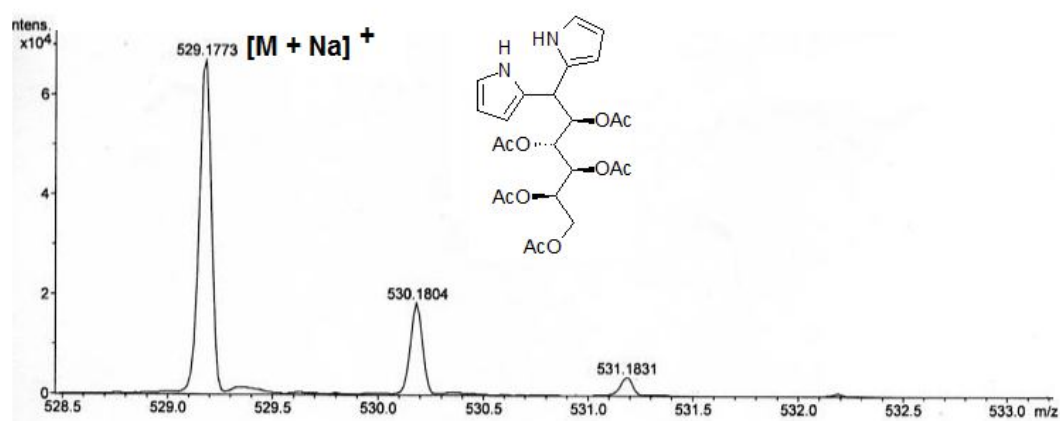
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **29**:



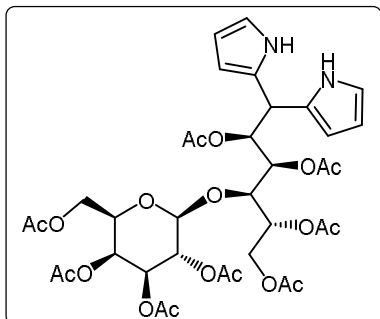
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **29**:



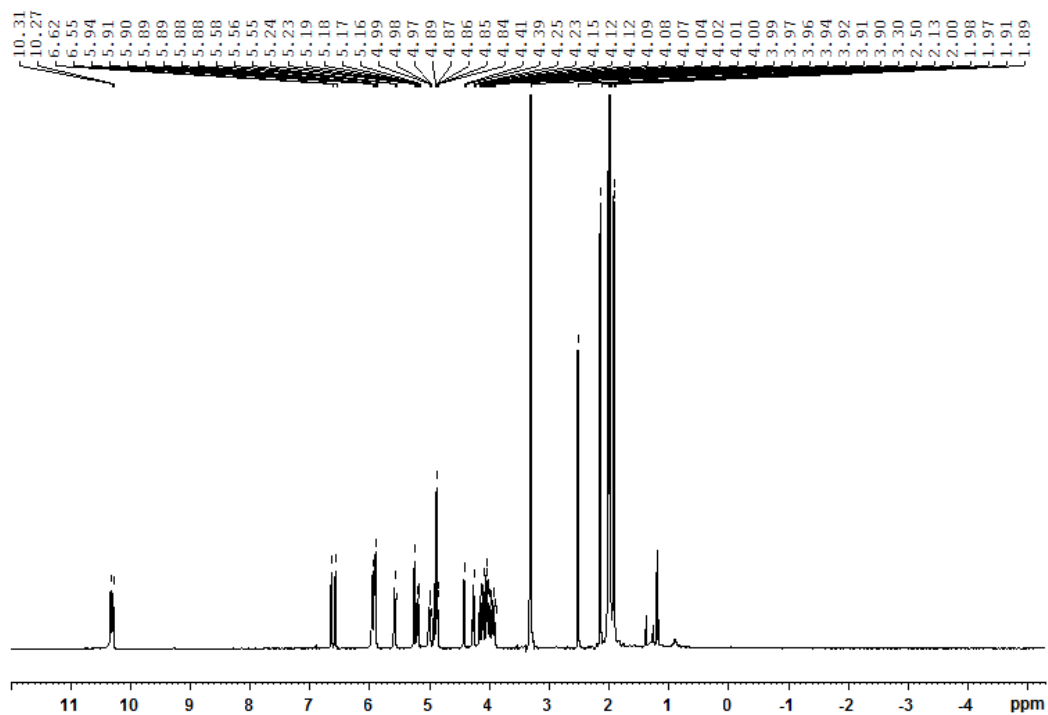
HRMS (ESI) do composto **29**:



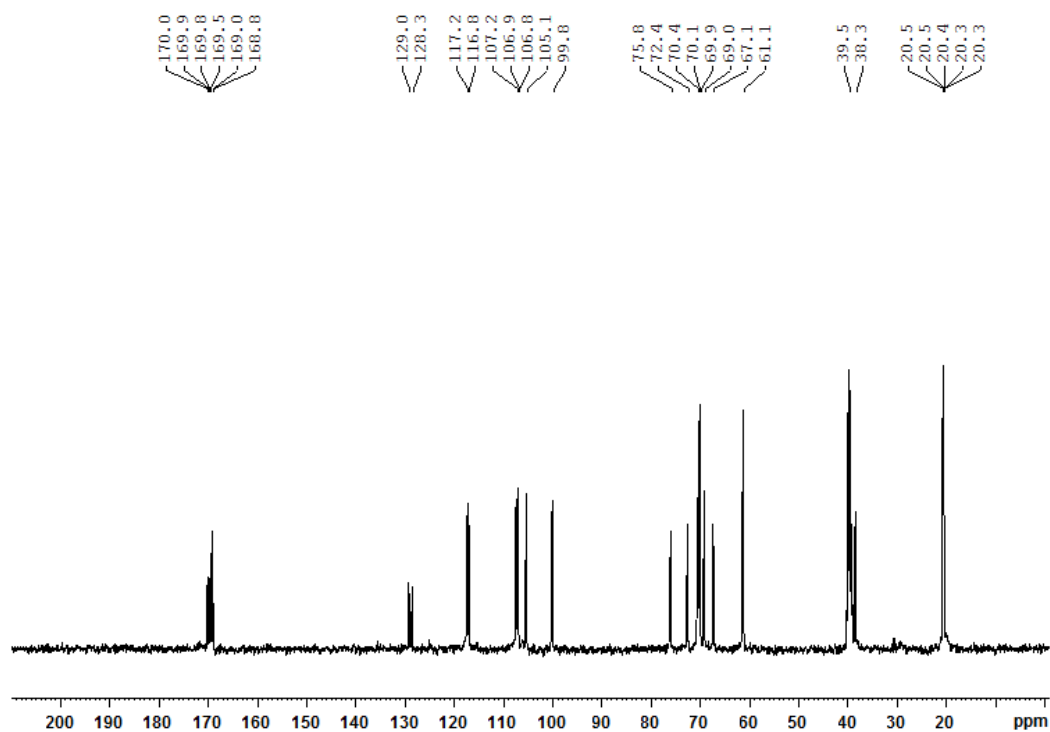
Composto **30**: 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,5,6-Tetra-O-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-D-glucitol



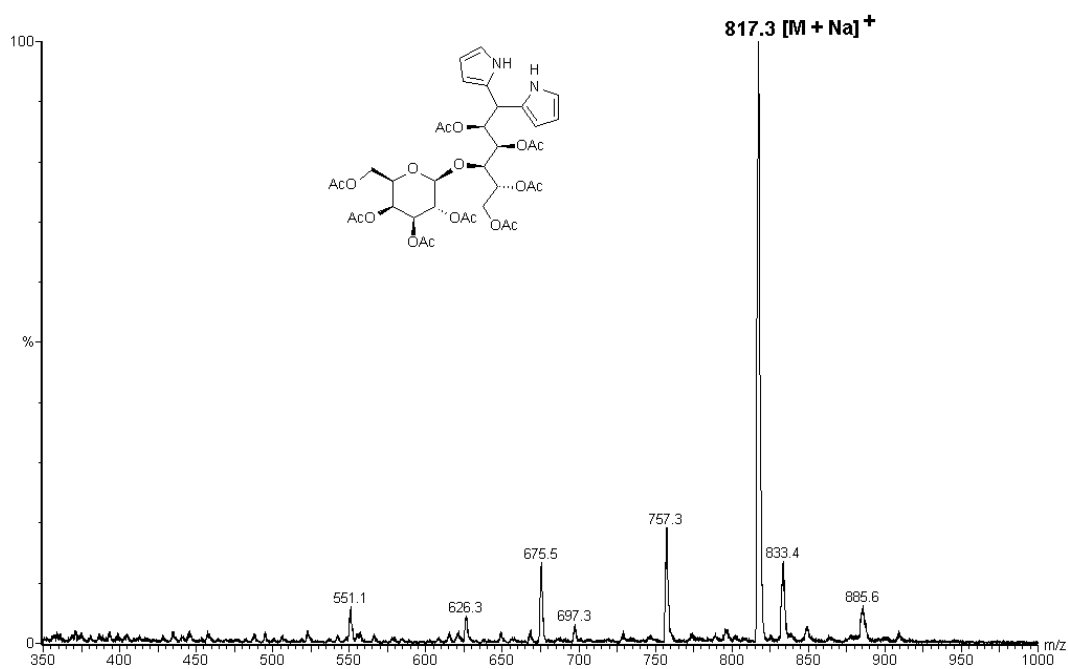
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **30**:



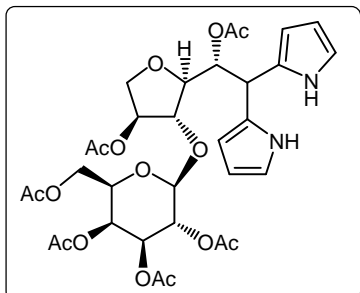
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **30**:



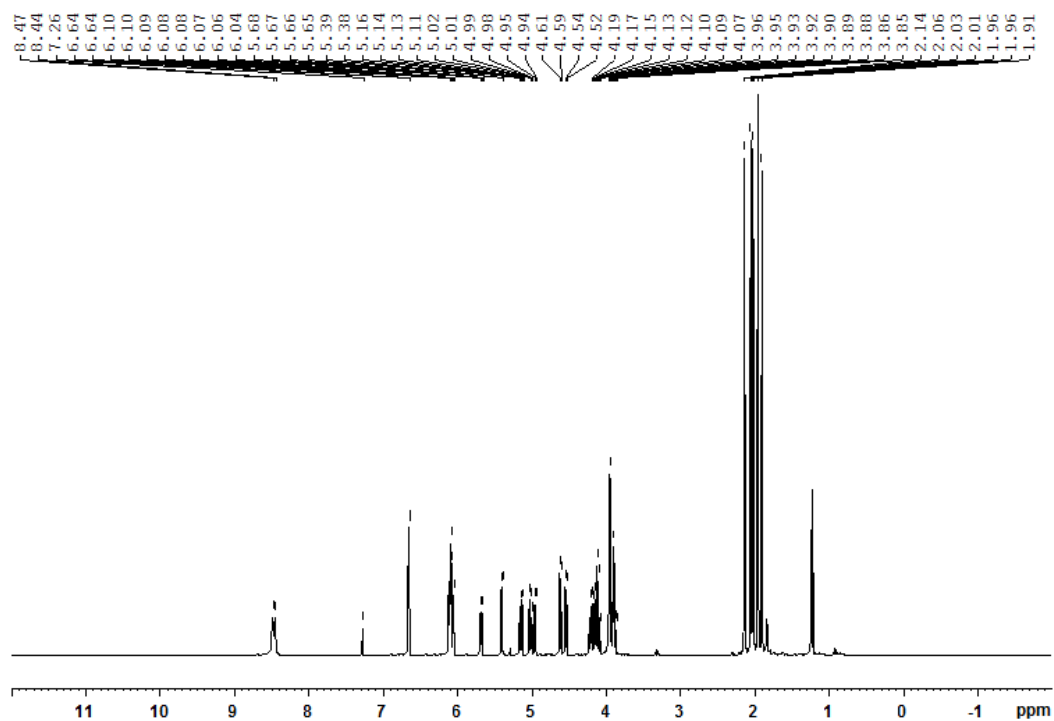
MALDI-TOF do composto **30**:



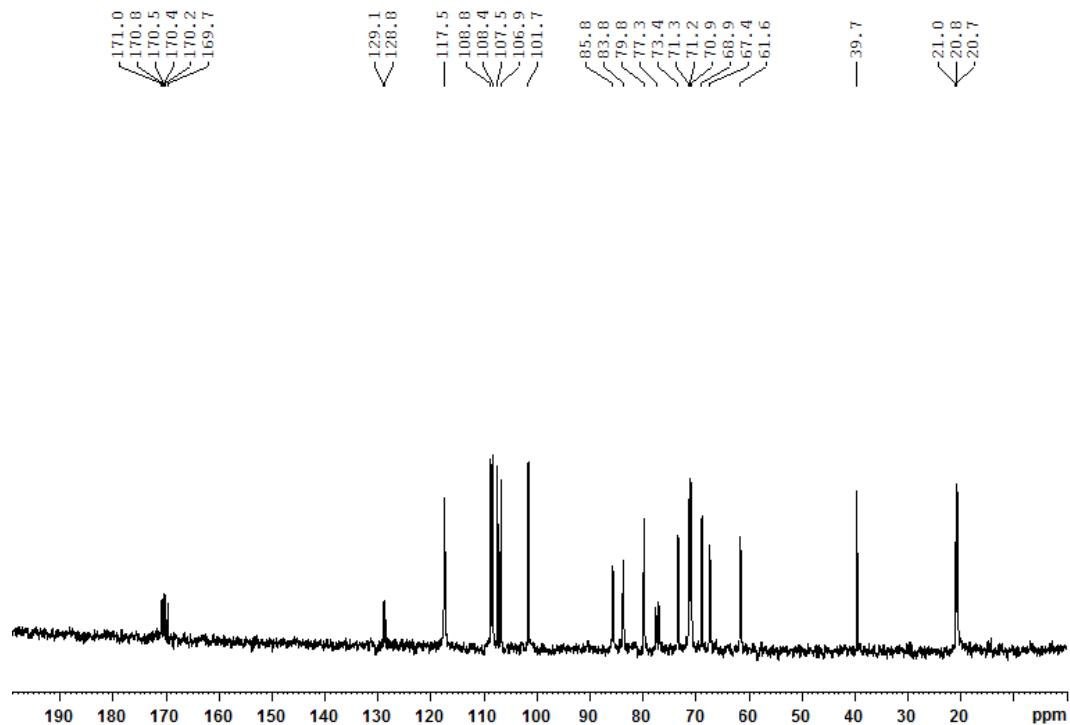
Composto **31**: 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,5-di-*O*-acetil-1-desoxi-1,1-dipirril-3,6-anidro-L-galactitol



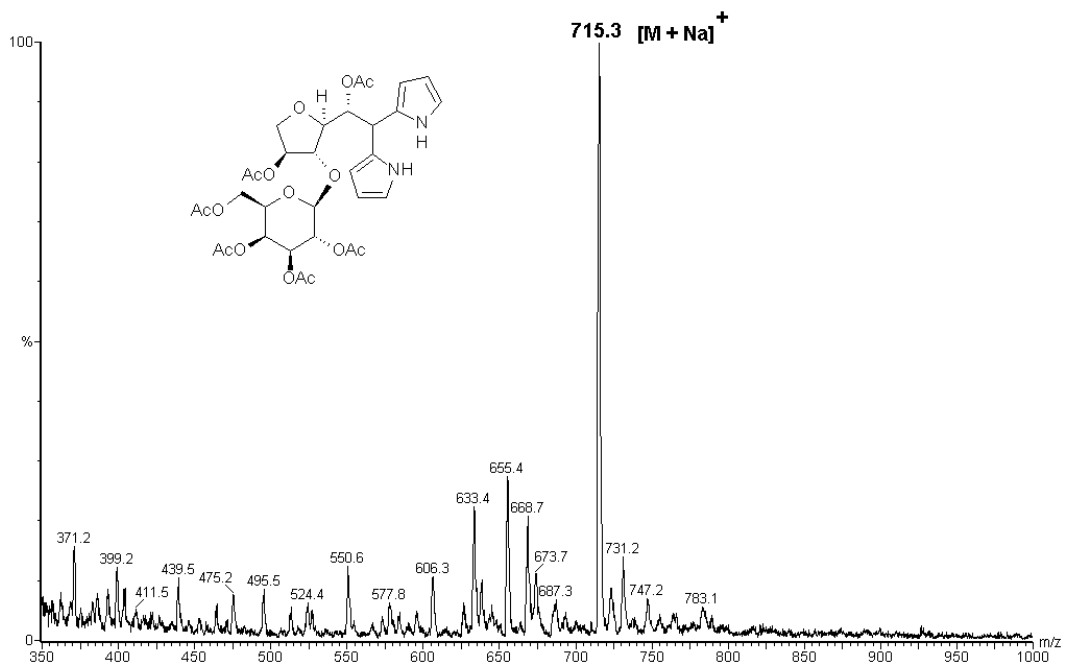
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **31**:



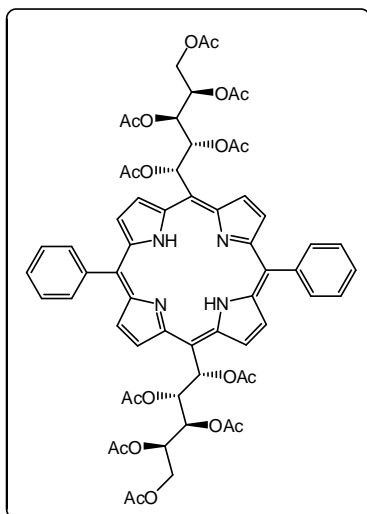
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **31**:



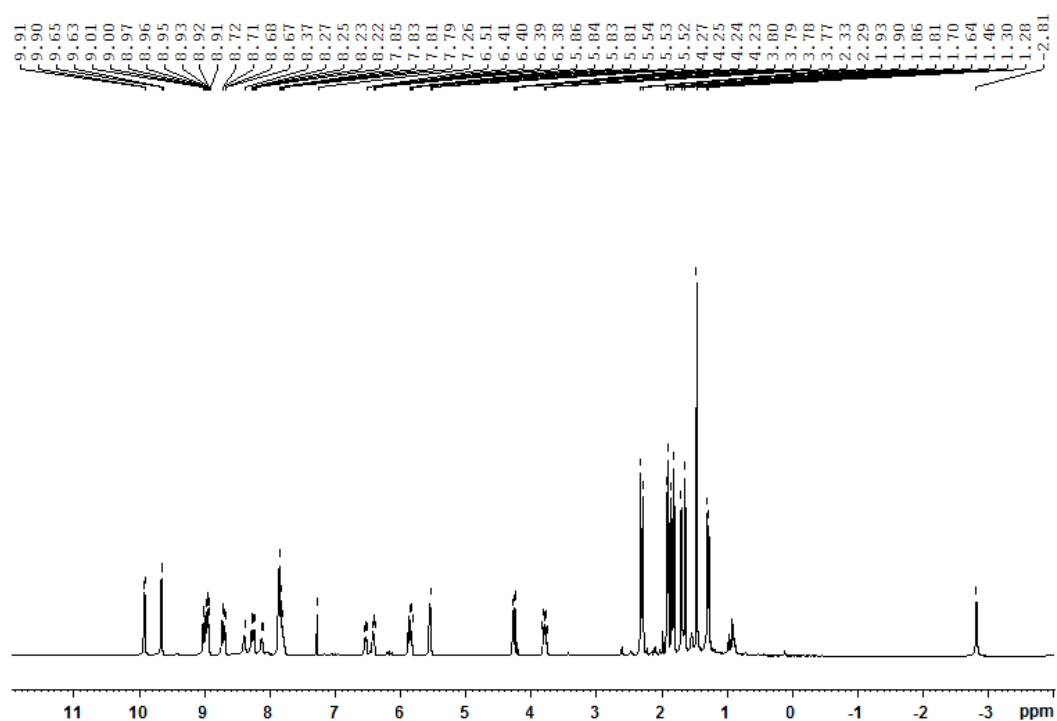
MALDI-TOF do composto **31**:



Composto **32**: 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina

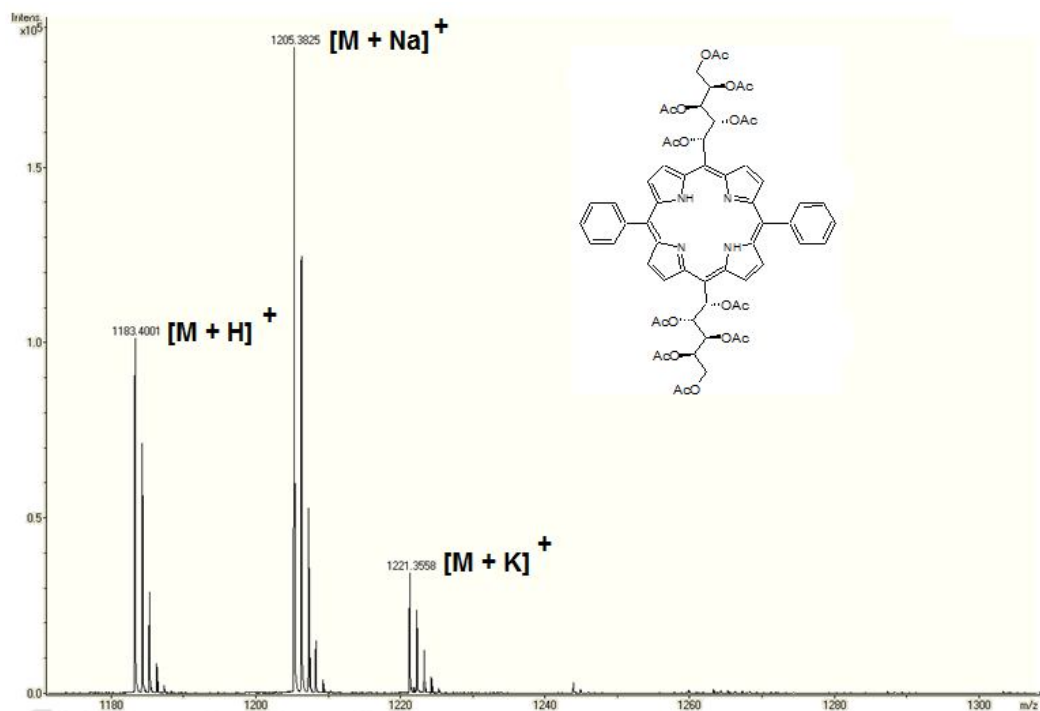


RMN de  $^1\text{H}$  do composto **32**:

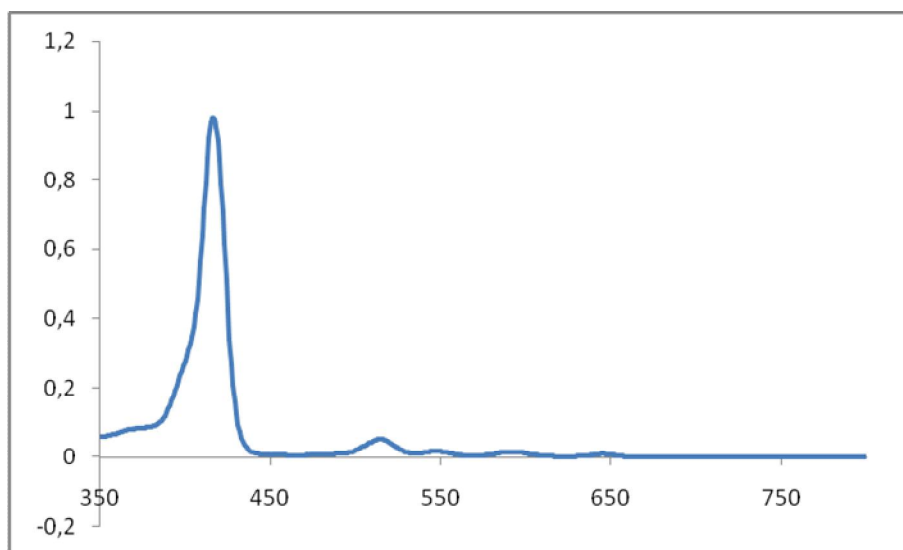




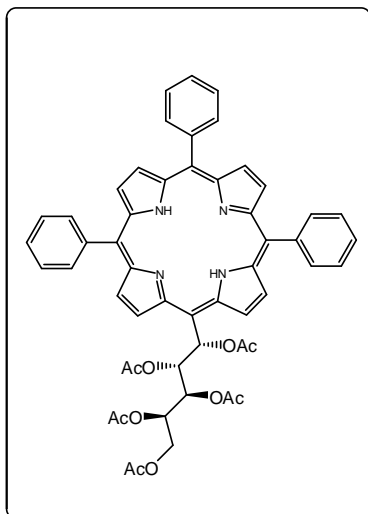
HRMS (ESI) do composto **32**:



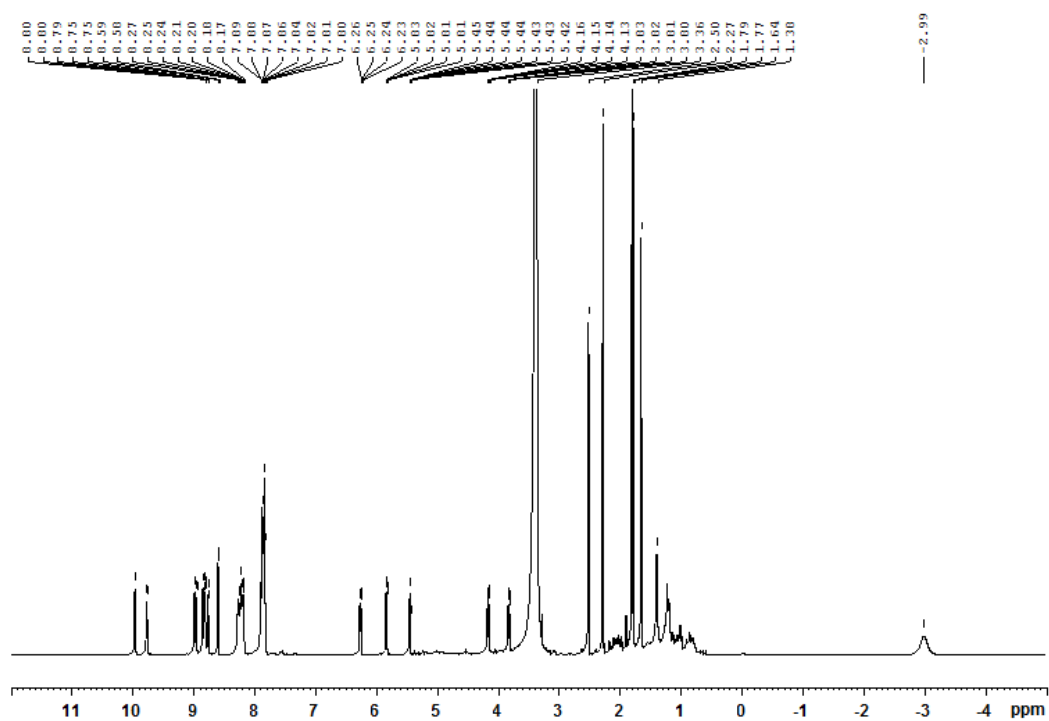
UV-vis do composto **32**:



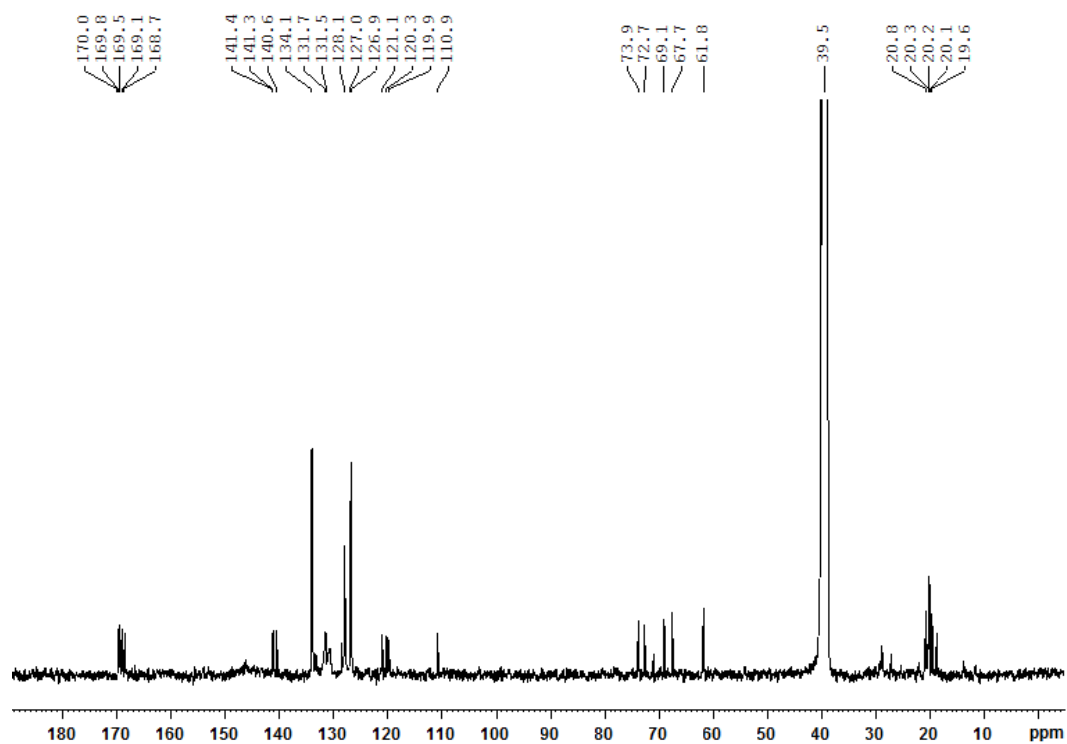
Composto **32a**: 5, 10, 15-[tris(fenil)]-20-[1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol]porfirina



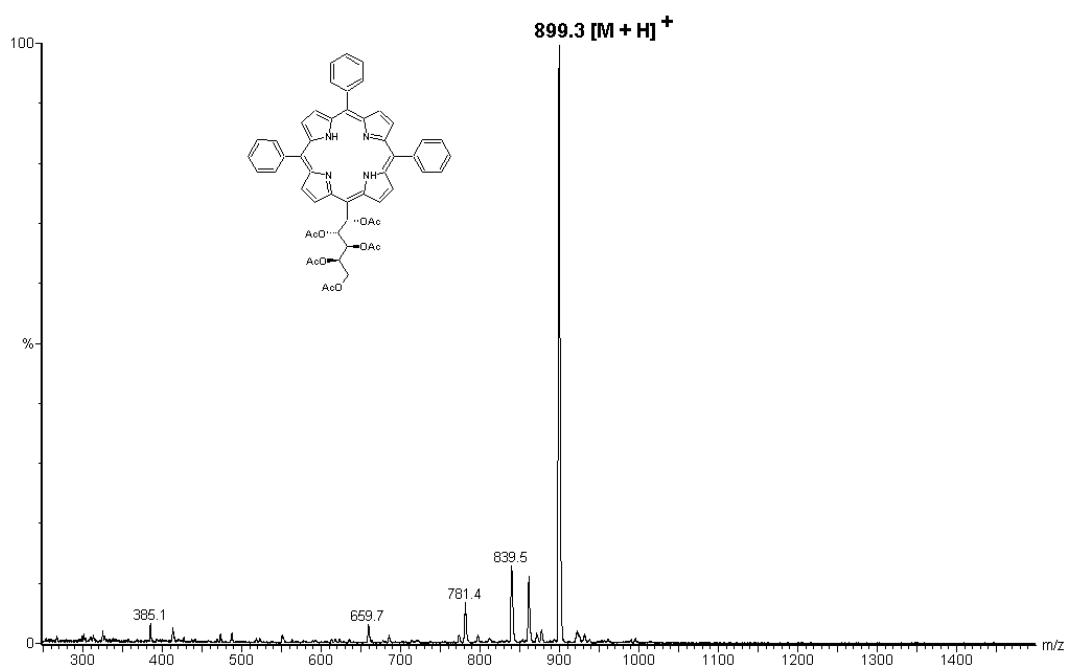
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **32a**:



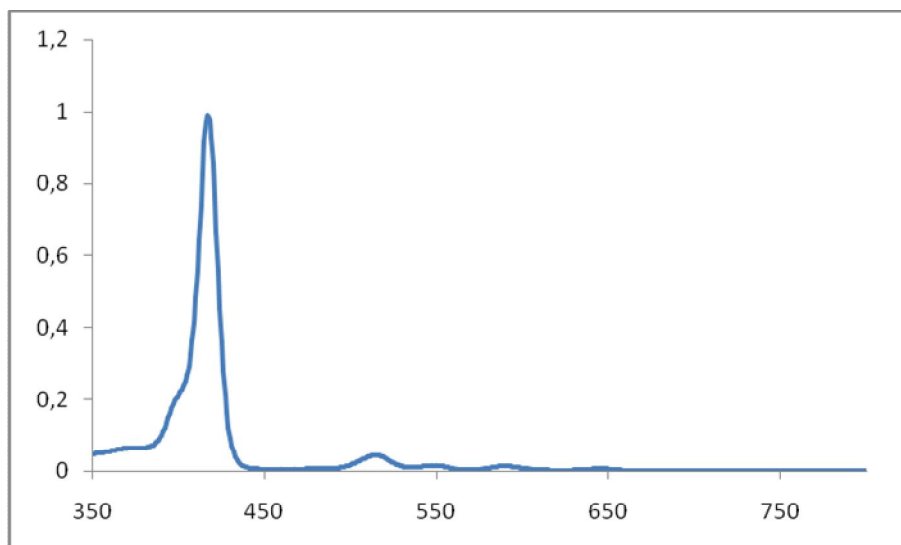
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **32a**:



MALDI-TOF do composto **32a**:

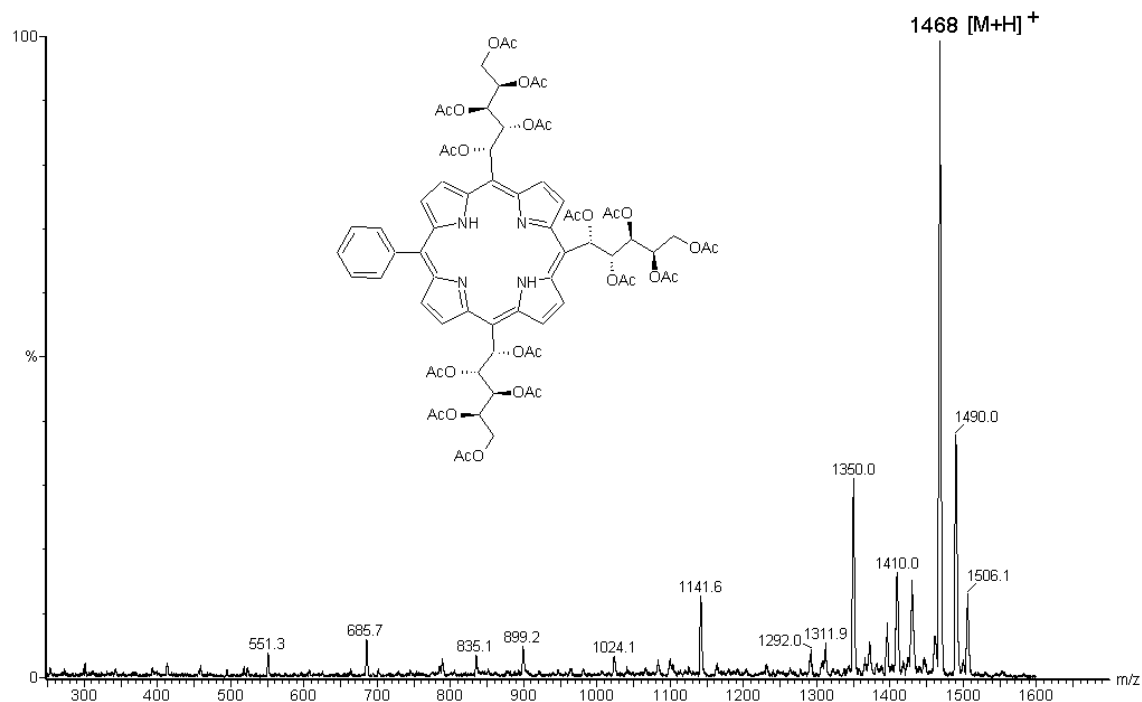


UV-vis do composto **32a**:

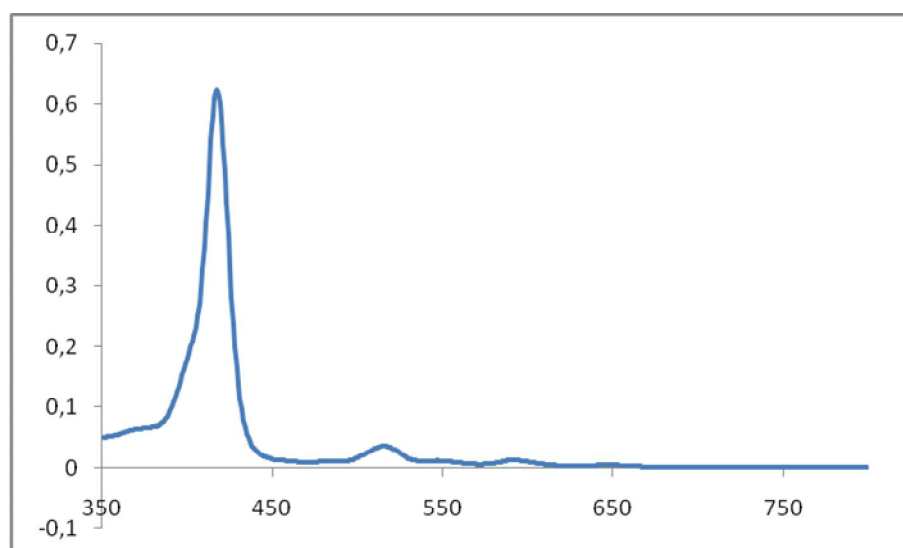


Composto **32b**: 5-fenil-10, 15, 20-[tris(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina

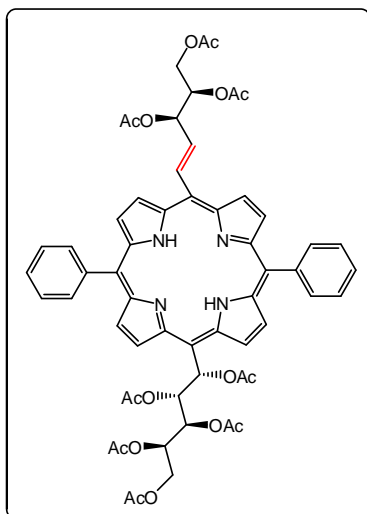
MALDI-TOF do composto **32b**:



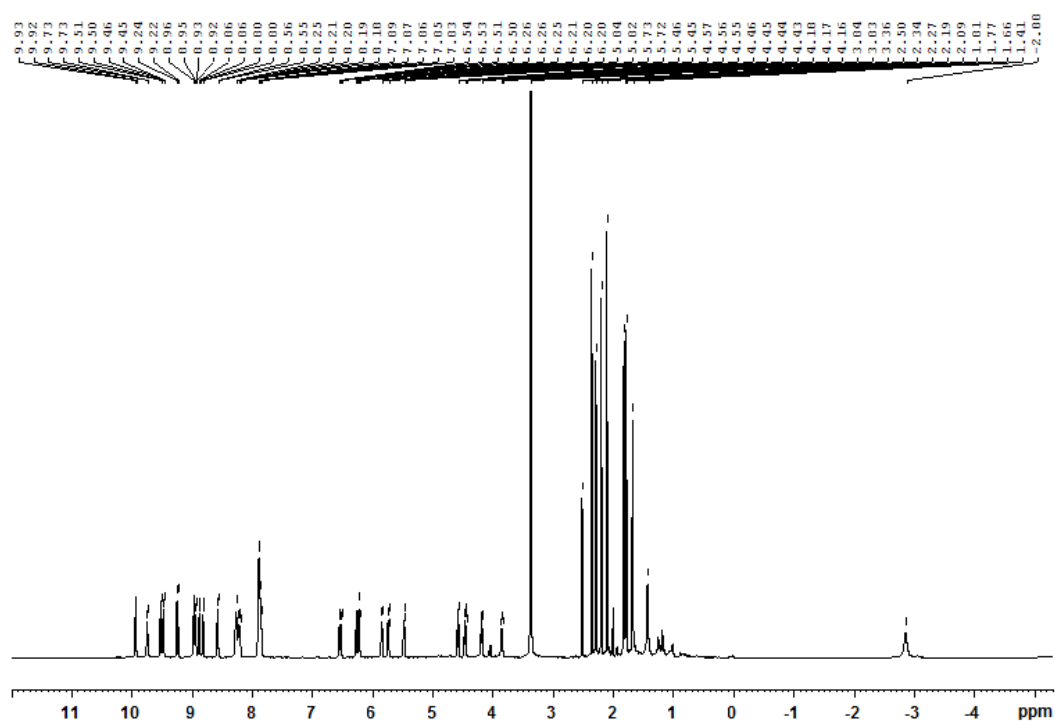
UV-vis do composto **32b**:



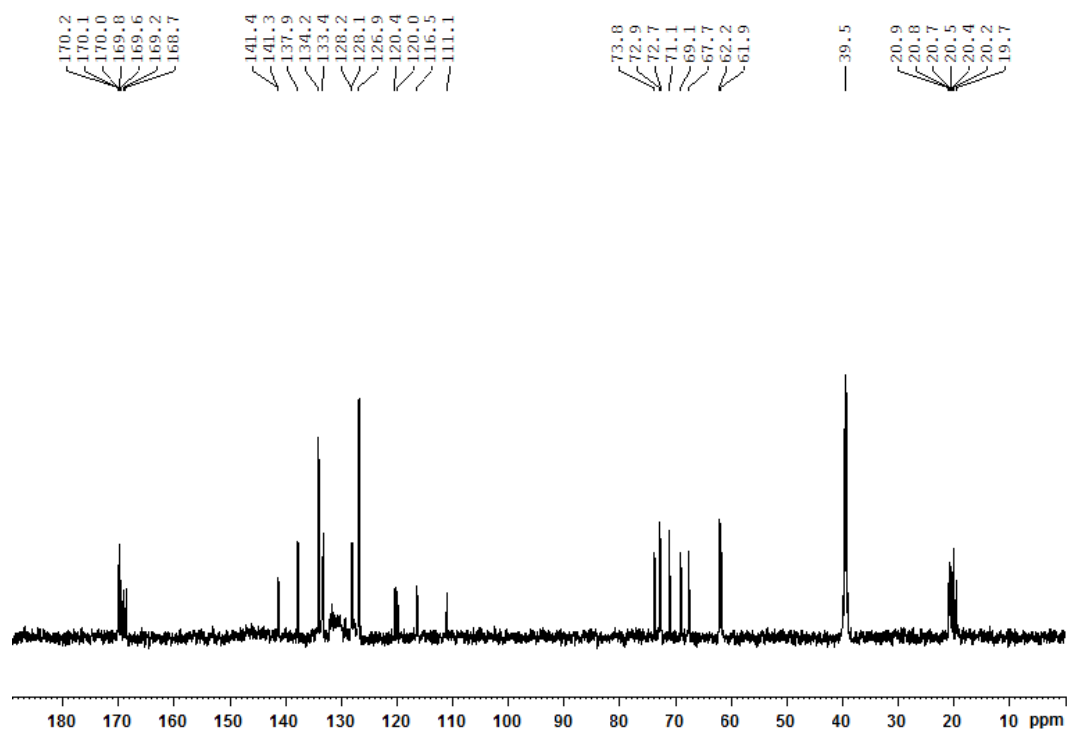
Composto **33**: 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''*E*)-1''-enil-3'',4'',5''-tri-O-acetil-D-lixitol]-20-[1'-C-(1'*S*)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol]porfirina (**33**)



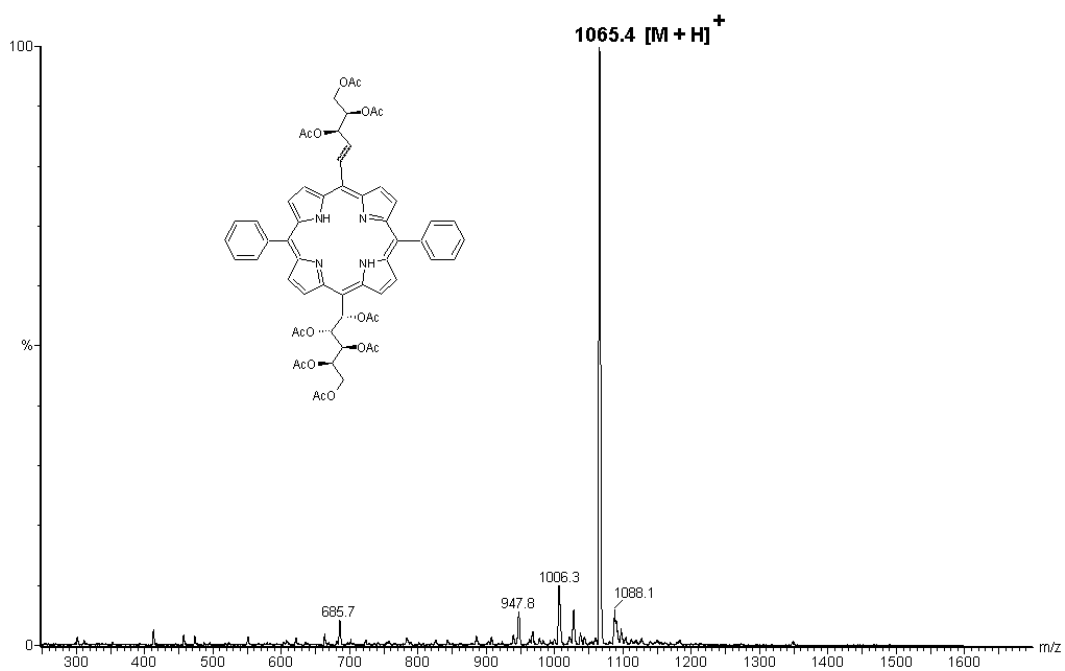
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **33**:



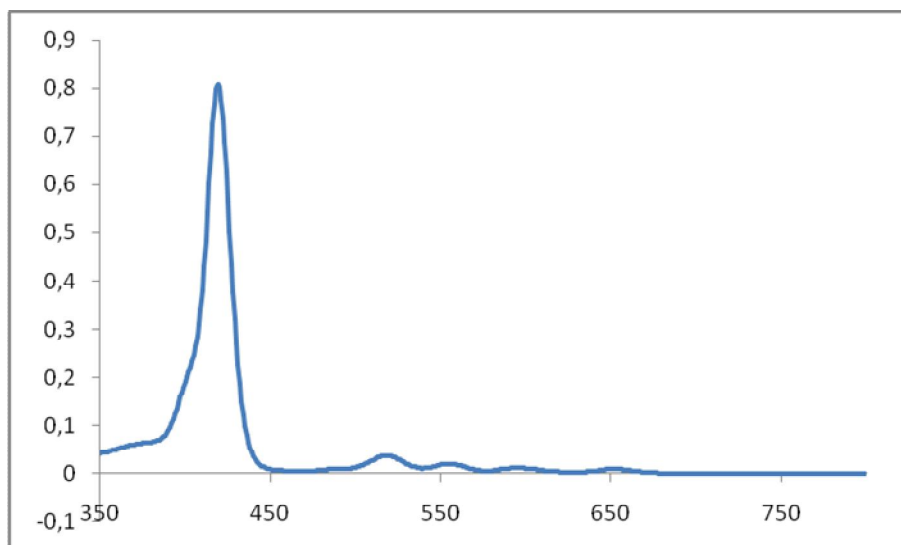
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **33**:



MALDI-TOF do composto **33**:

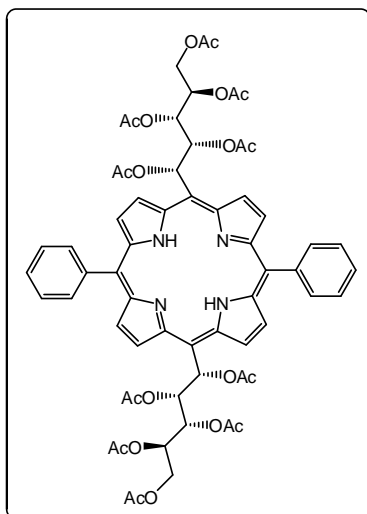


UV- vis do composto **33**:

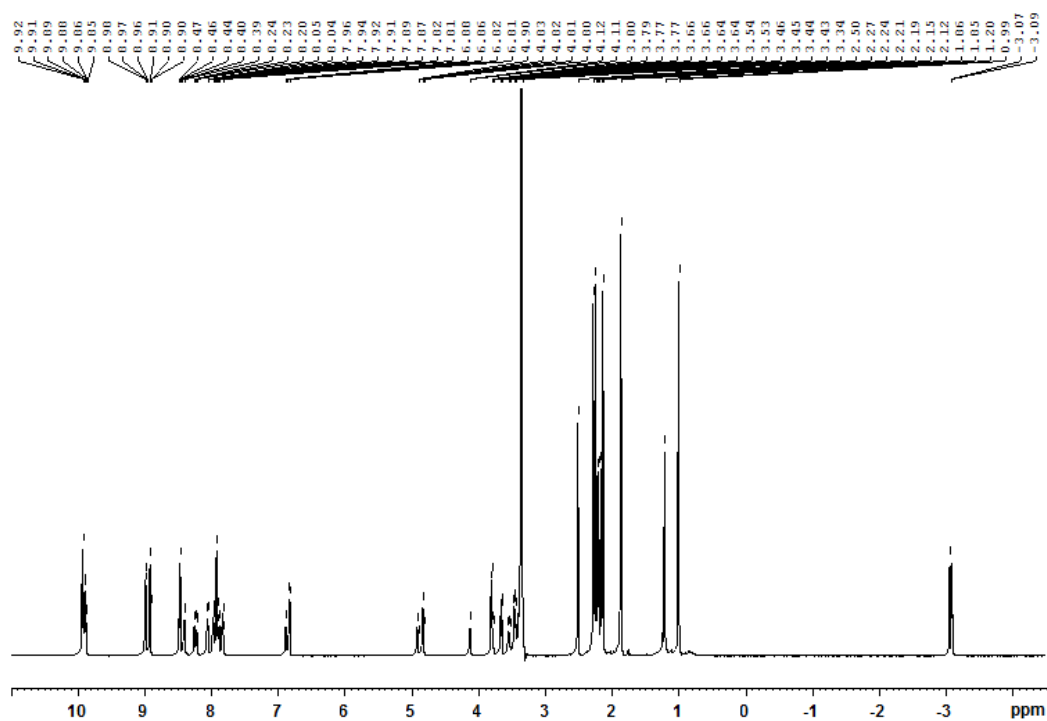




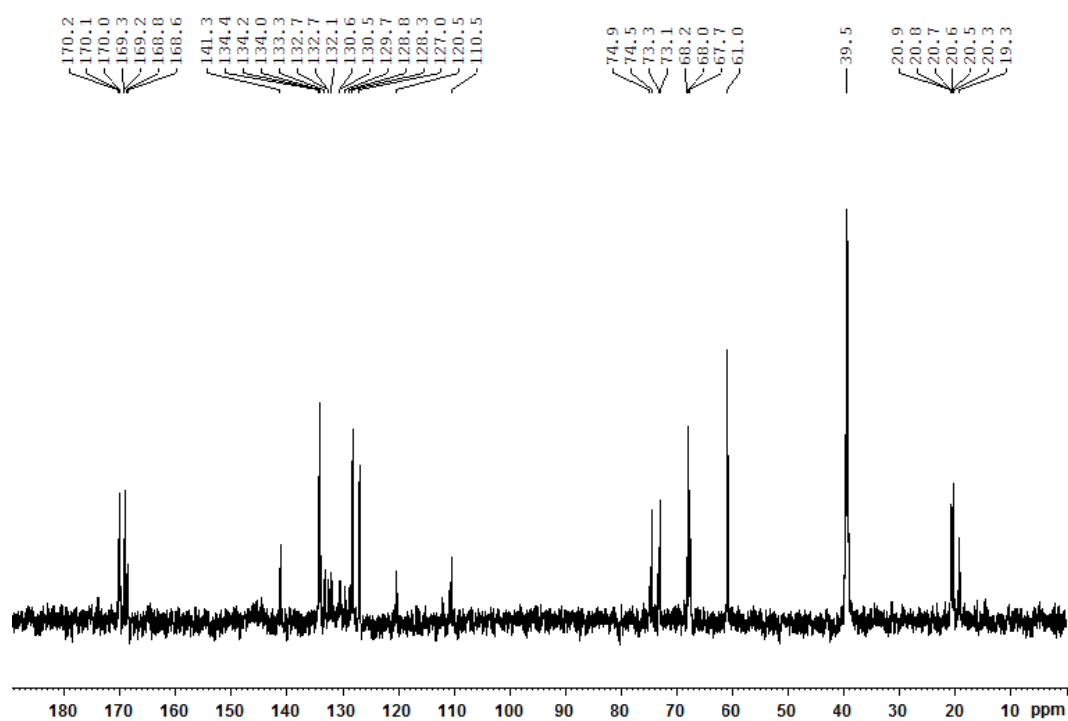
Composto **34a**: 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-xilitol)]porfirina



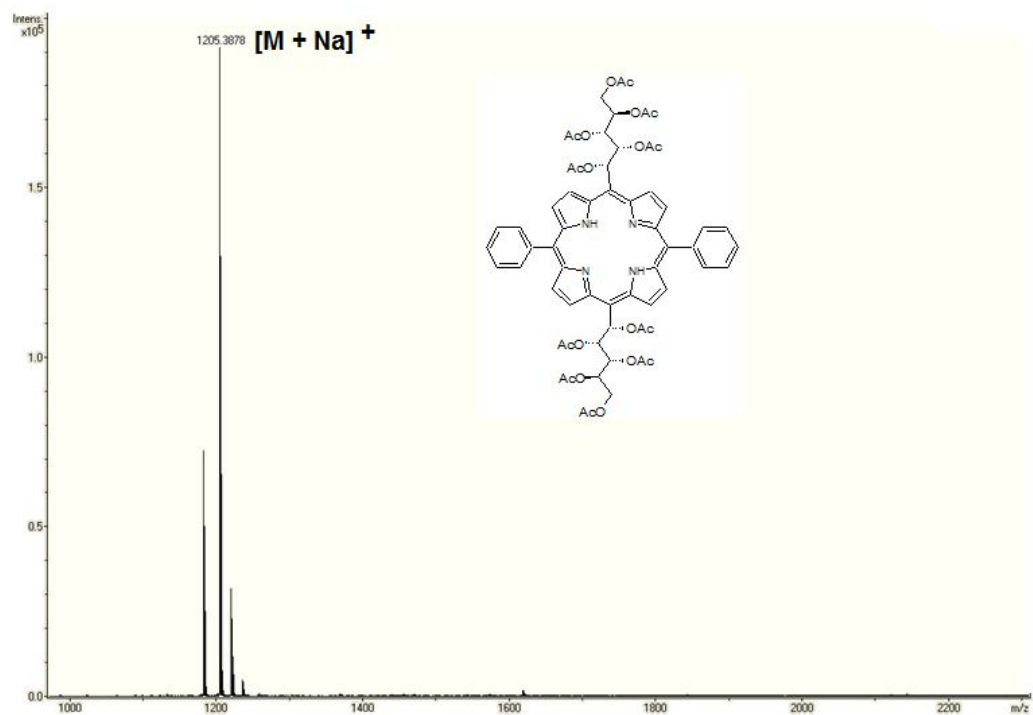
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **34a**:



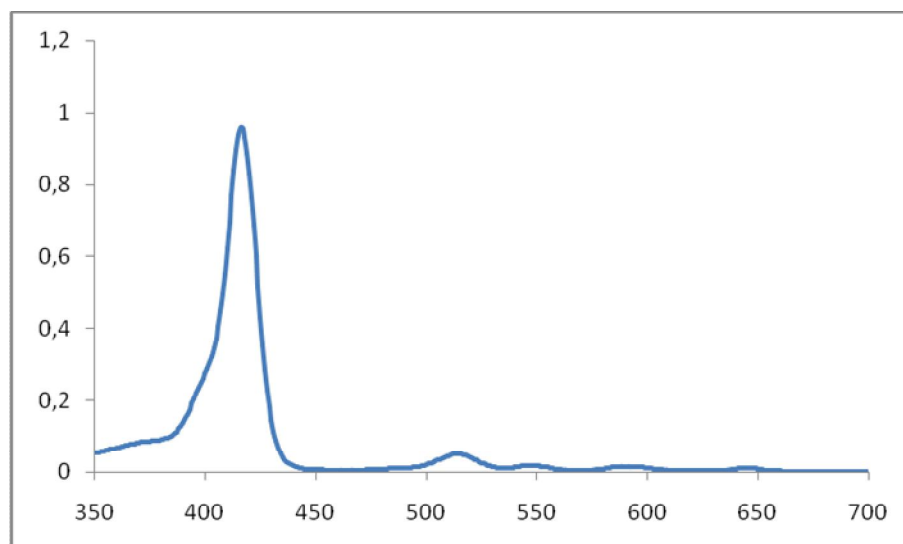
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **34a**:



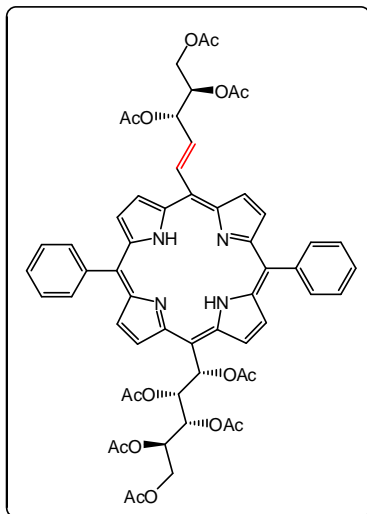
HRMS (ESI) do composto **34a**:



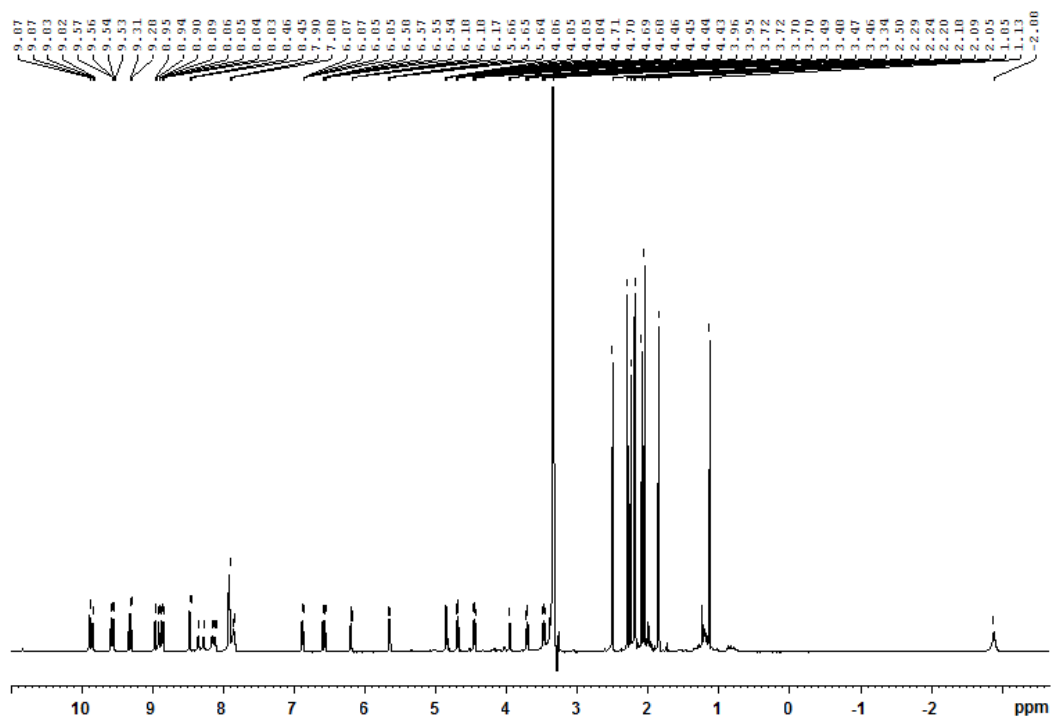
UV-vis do composto **34a**:



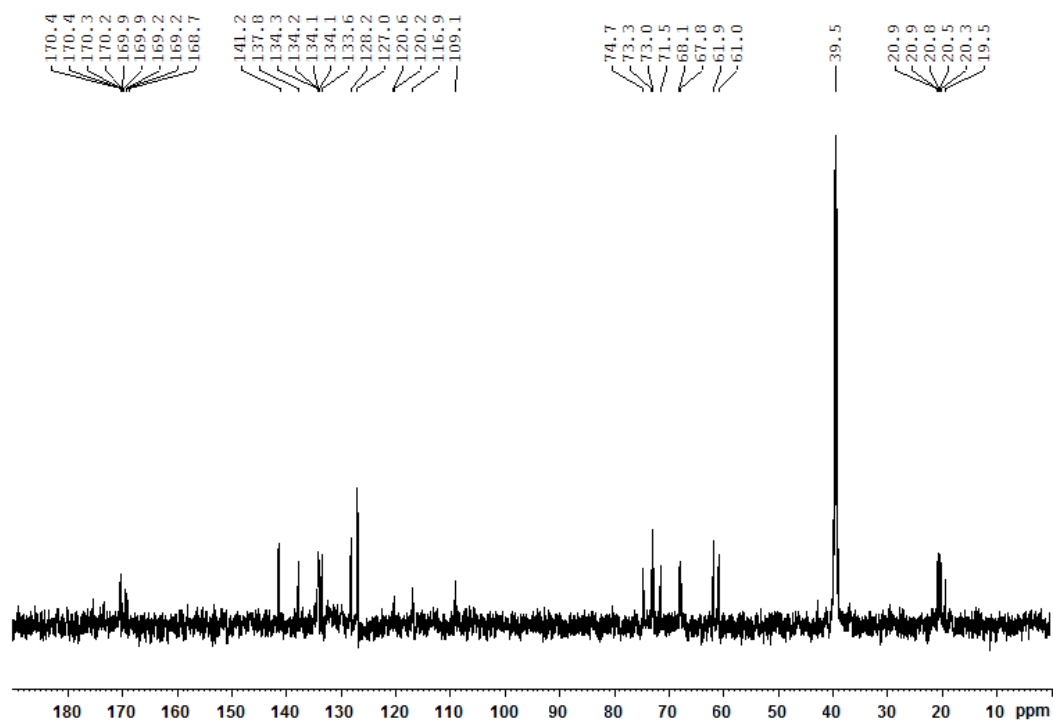
Composto **34b**: 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''*E*)-1''-enil-3'',4'',5''-tri-*O*-acetil-D-xilitol]-20-(1'-C,1'*S*)-1',2',3',4',5'-penta-*O*-acetil-D-xilitol]porfirina



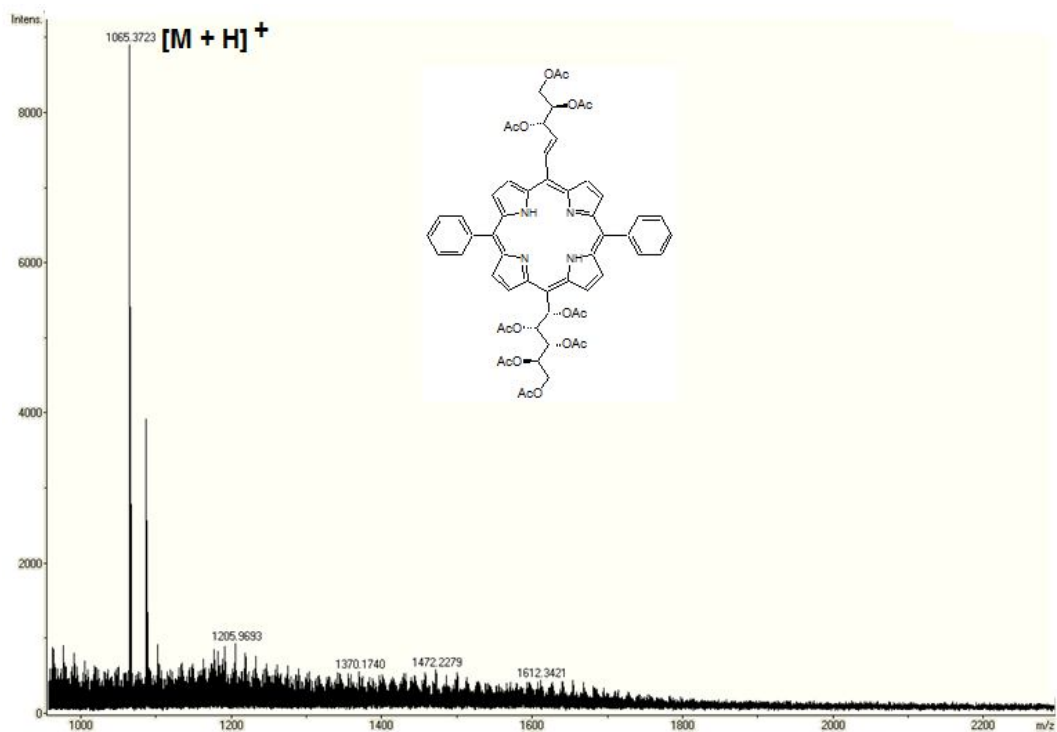
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **34b**:



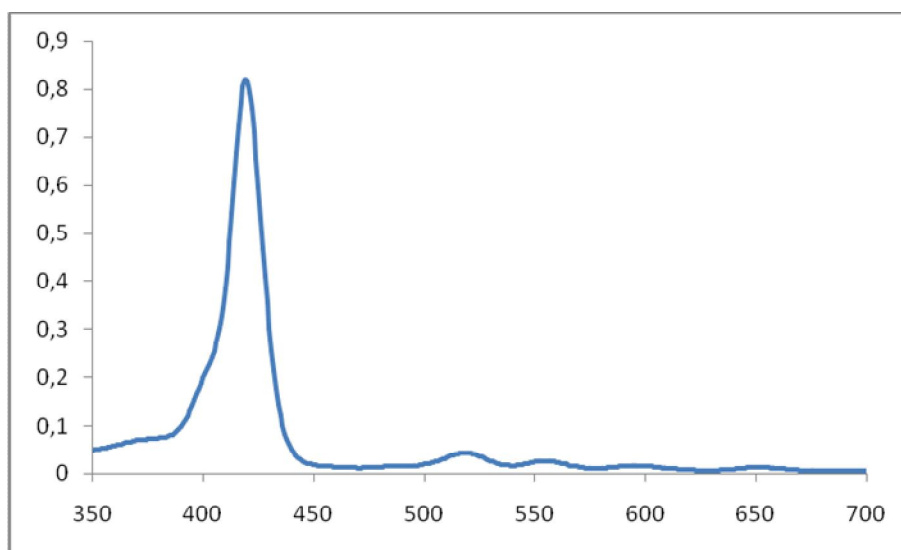
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **34b**:



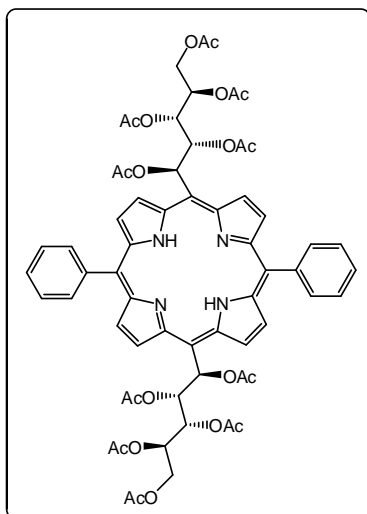
HRMS (ESI) do composto **34b**:



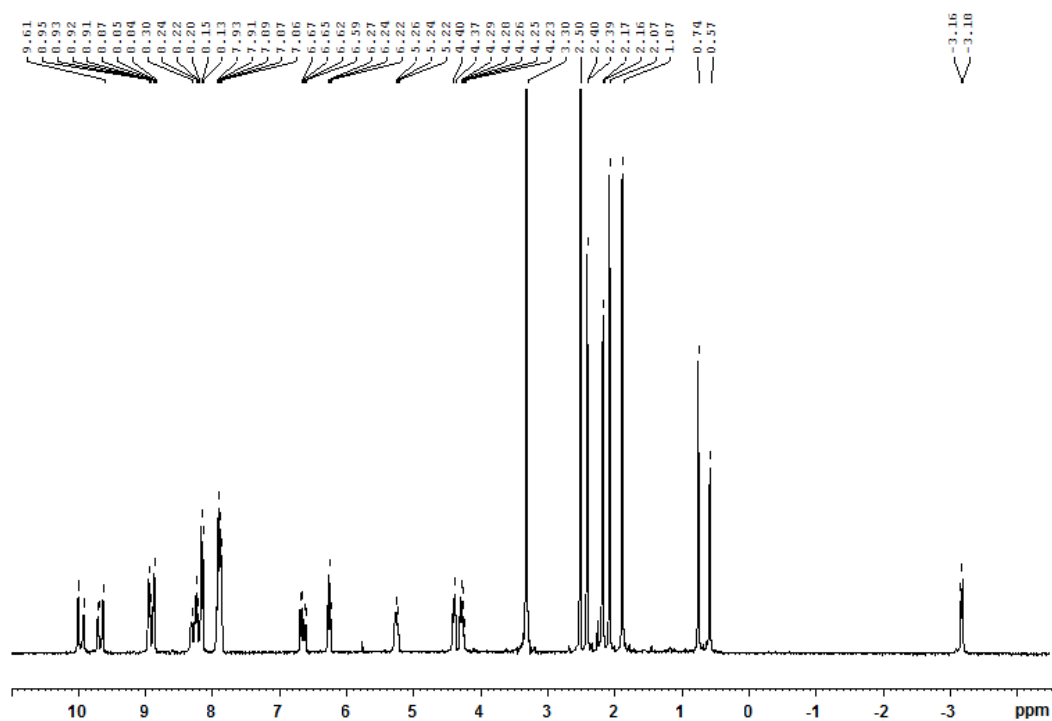
UV-vis do composto **34b**:



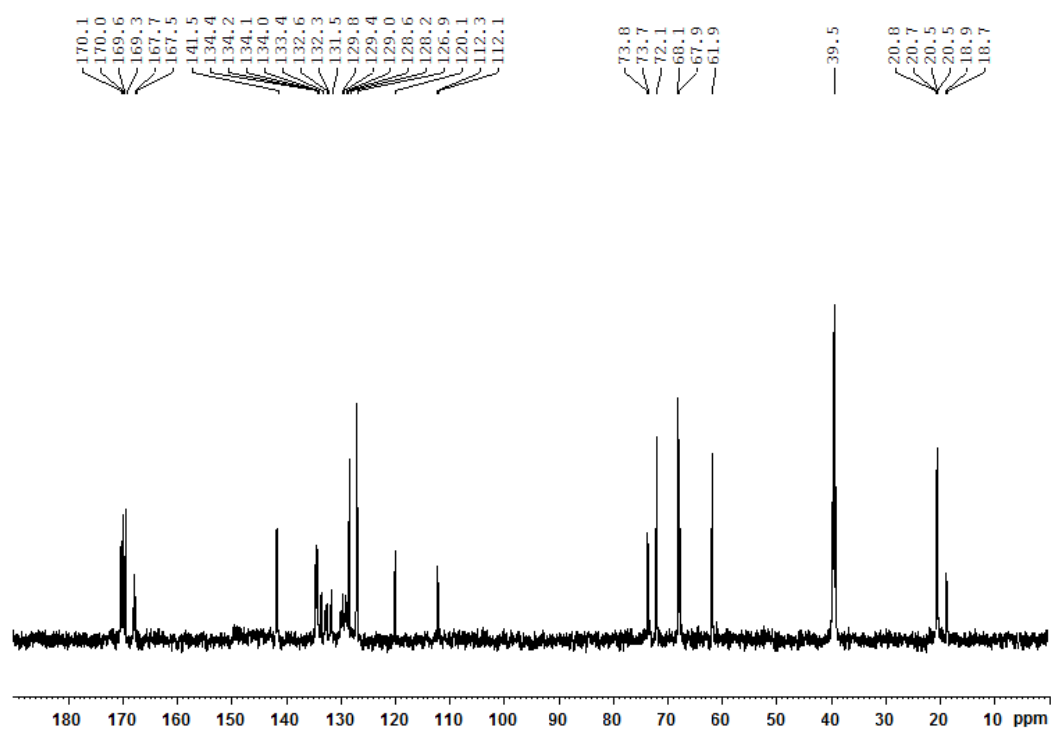
Composto **35a**: 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'C-(1'R)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-arabinitol)]porfirina



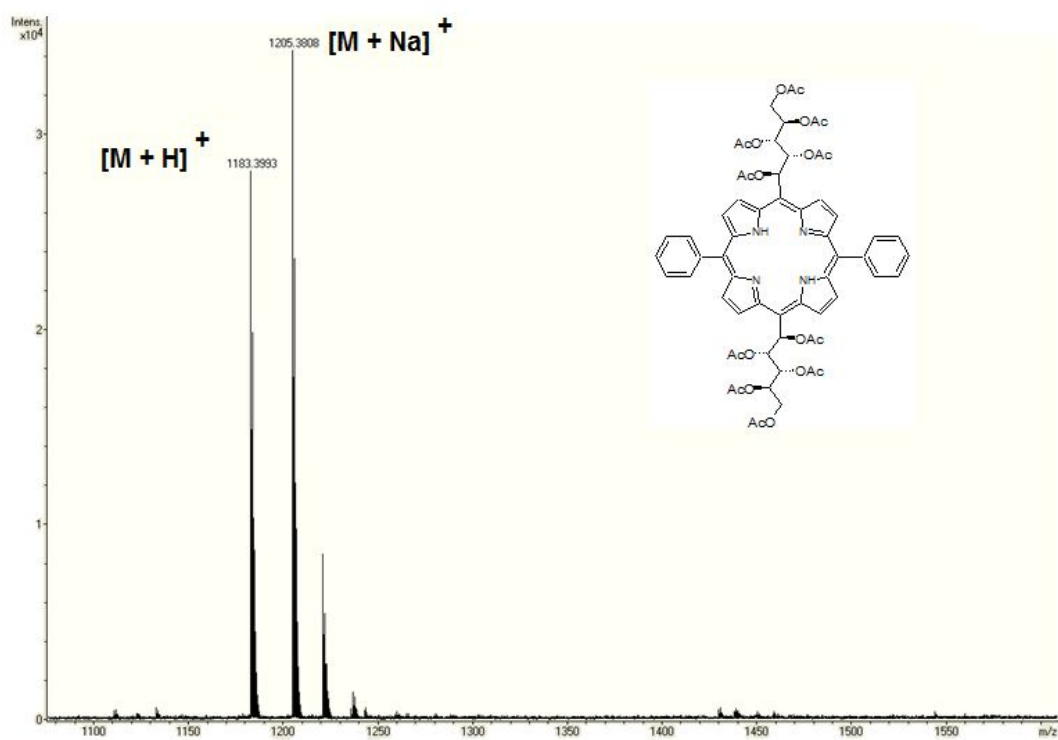
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **35**:



RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **35a**:

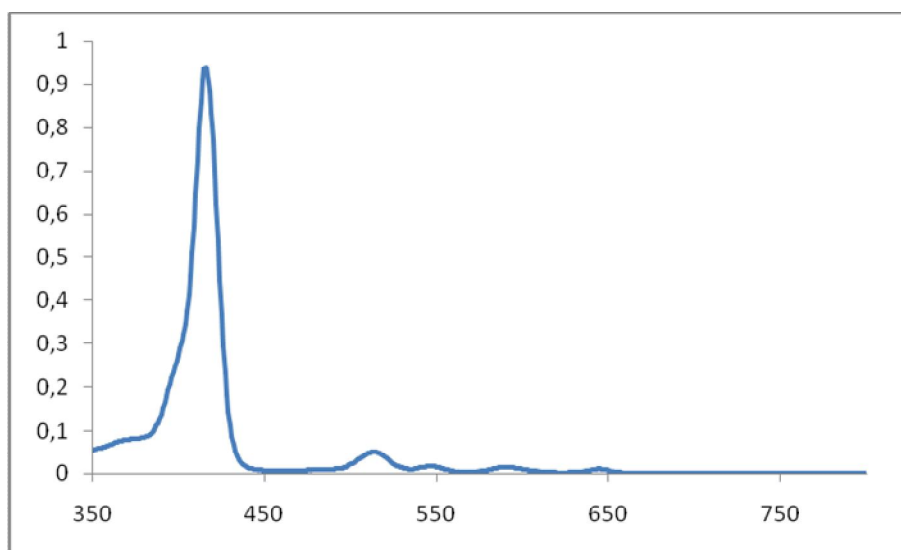


HRMS (ESI) do composto **35a**:

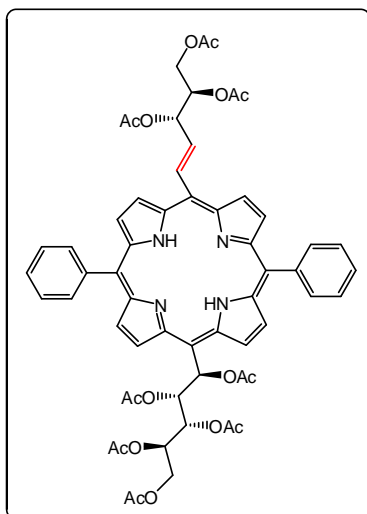




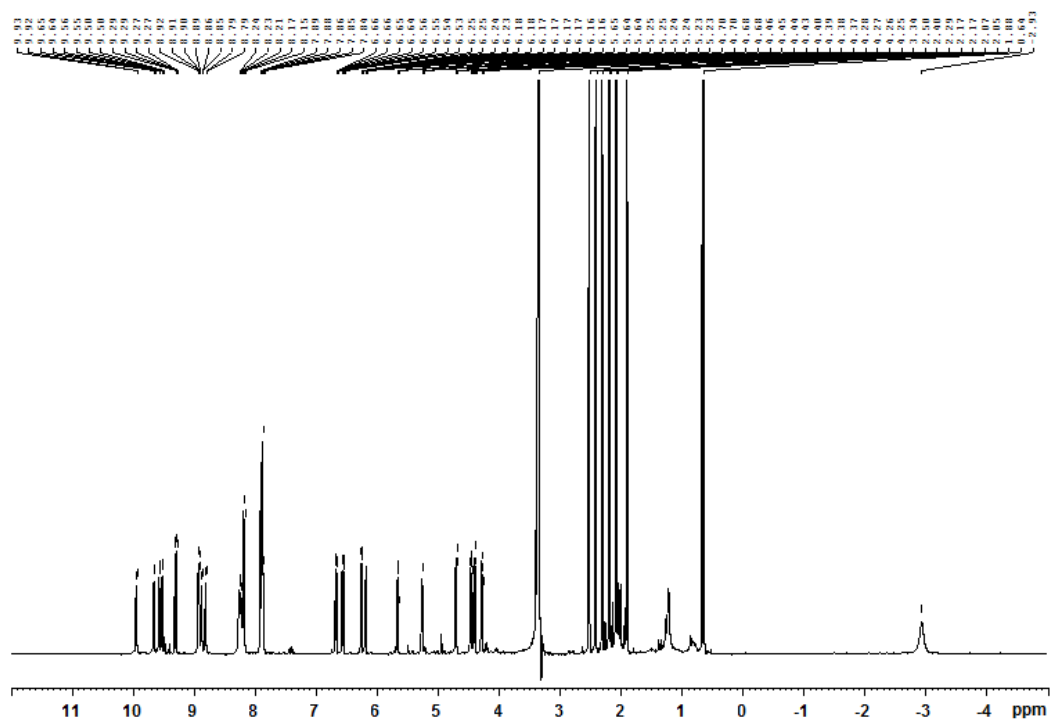
UV-vis do composto **35a**:



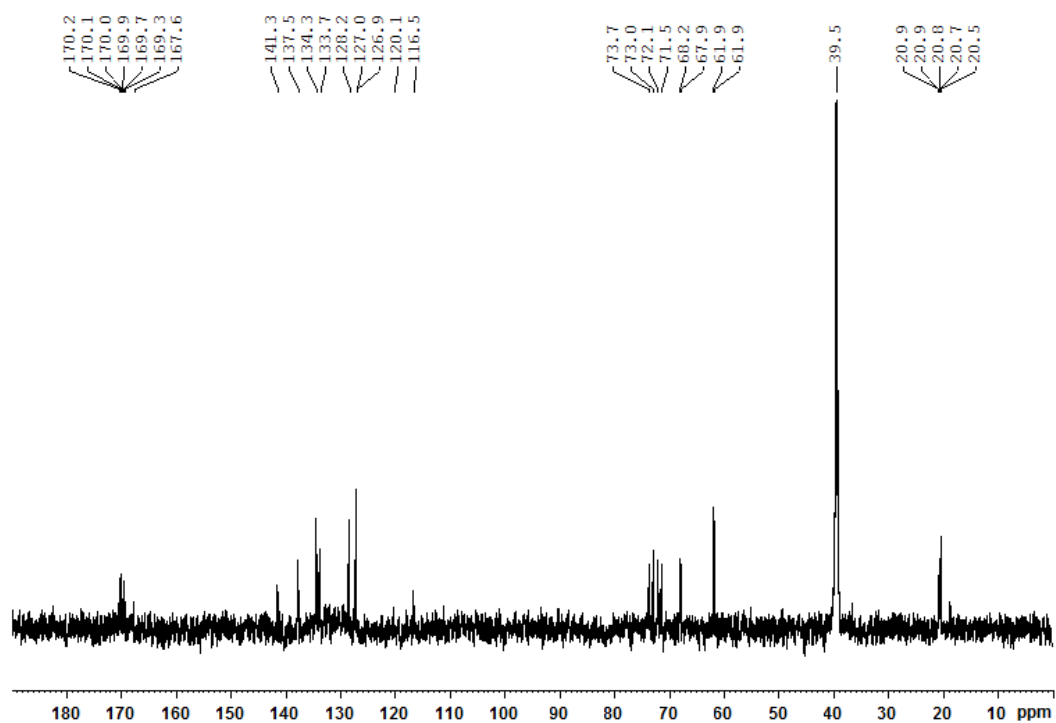
Composto **35b**: 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''*E*)-1''-enil-3'',4'',5''-tri-*O*-acetil-D-arabinitol]-20-[1'-C-(1'*R*)-1',2',3',4',5'-penta-*O*-acetil-arabinitol]porfirina



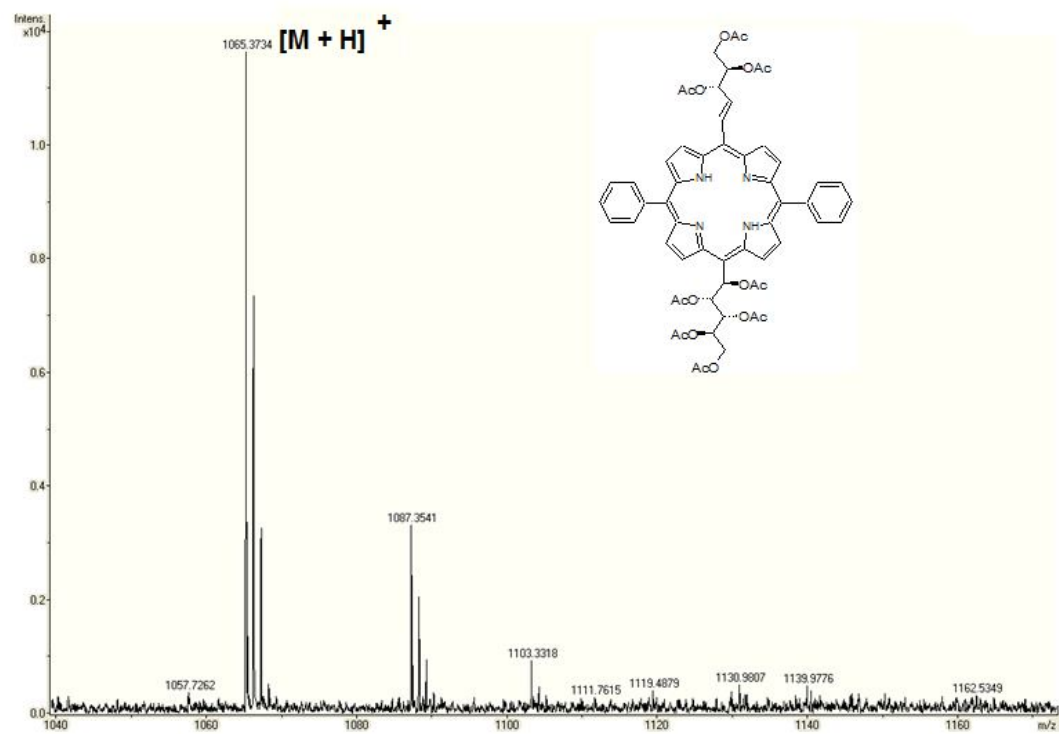
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **35b**:



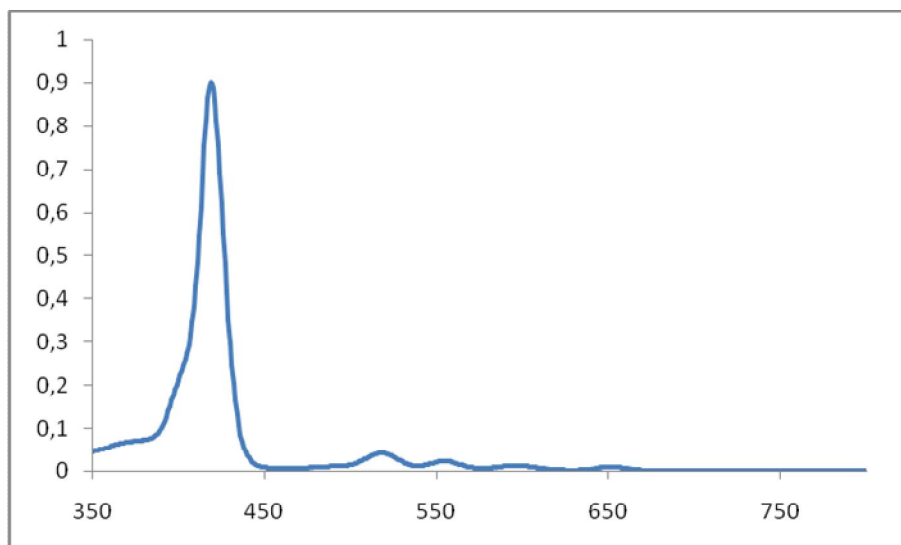
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **35b**:



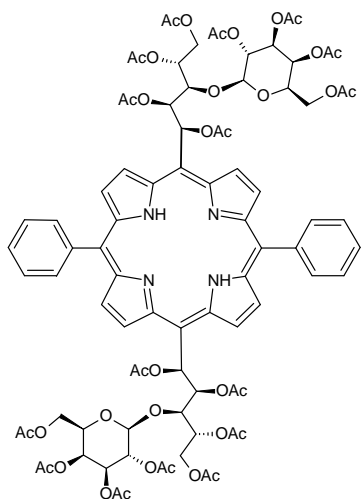
HRMS (ESI) do composto **35b**:



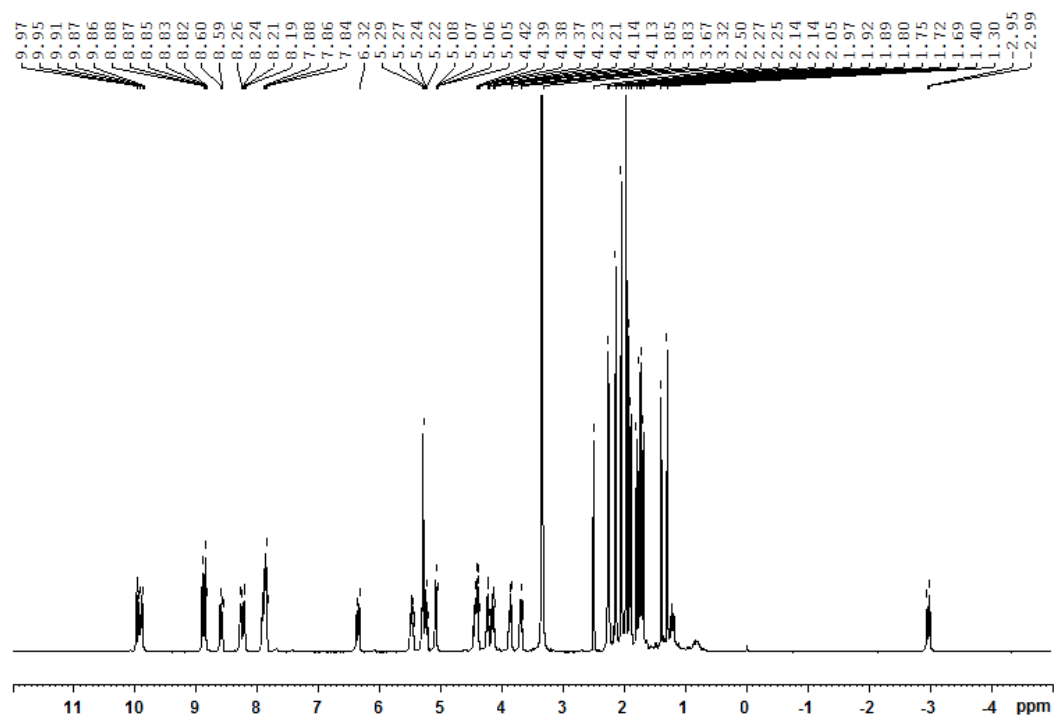
UV-vis do composto **35b**:



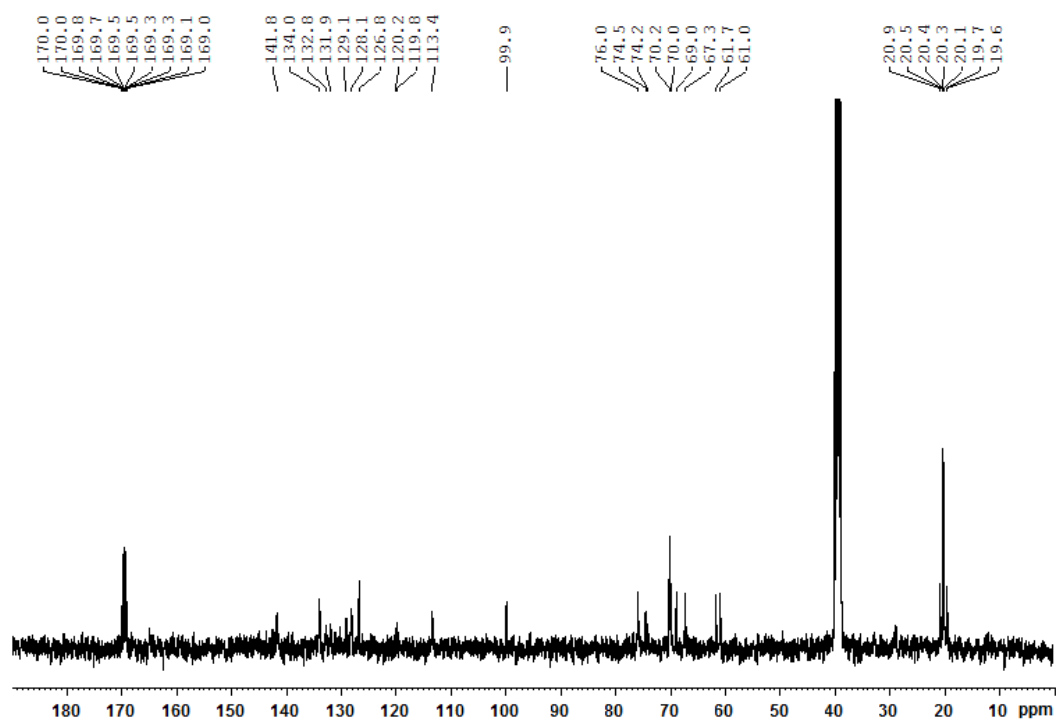
Composto **36a**: 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',5'-tetra-O-acetil-3'-(2''',3''',4''',6'''-tetra-O-acetil-1'''-O-β-D-galactopiranosil)-D-xilitol)]porfirina (**36a**)



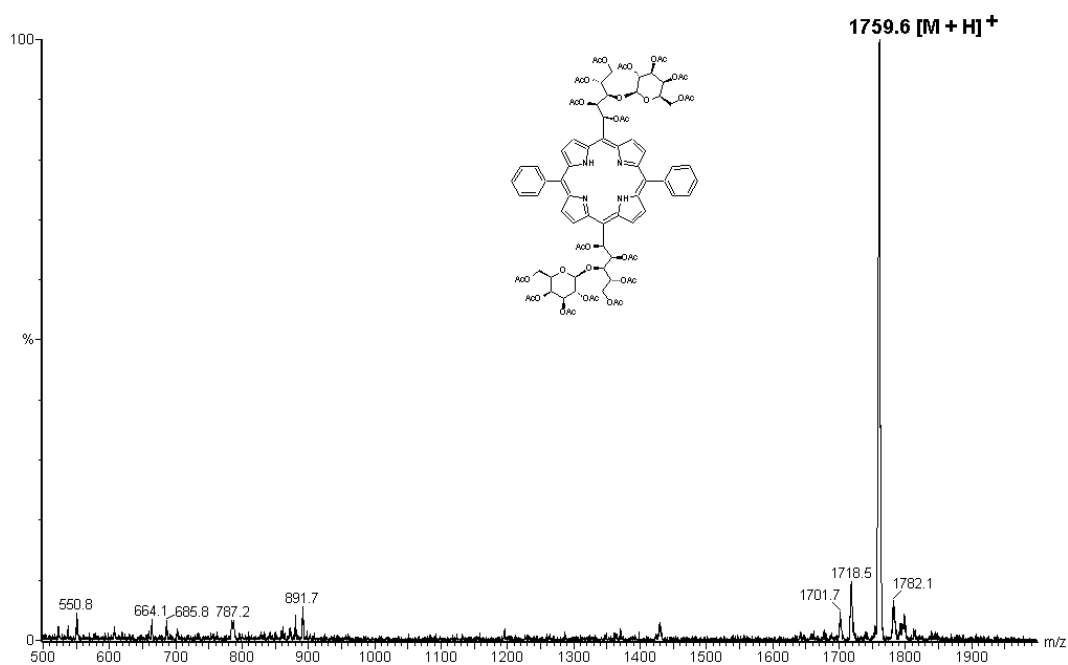
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **36a**:



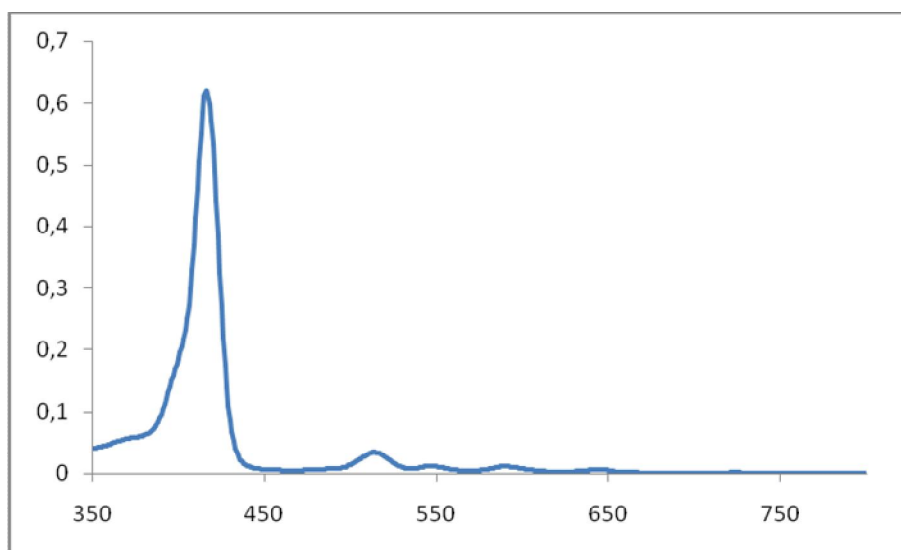
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **36a**:



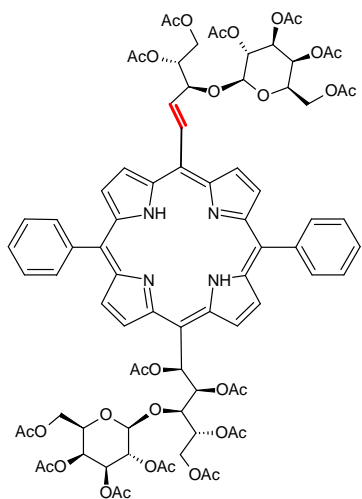
MALDI-TOF do composto **36a**:



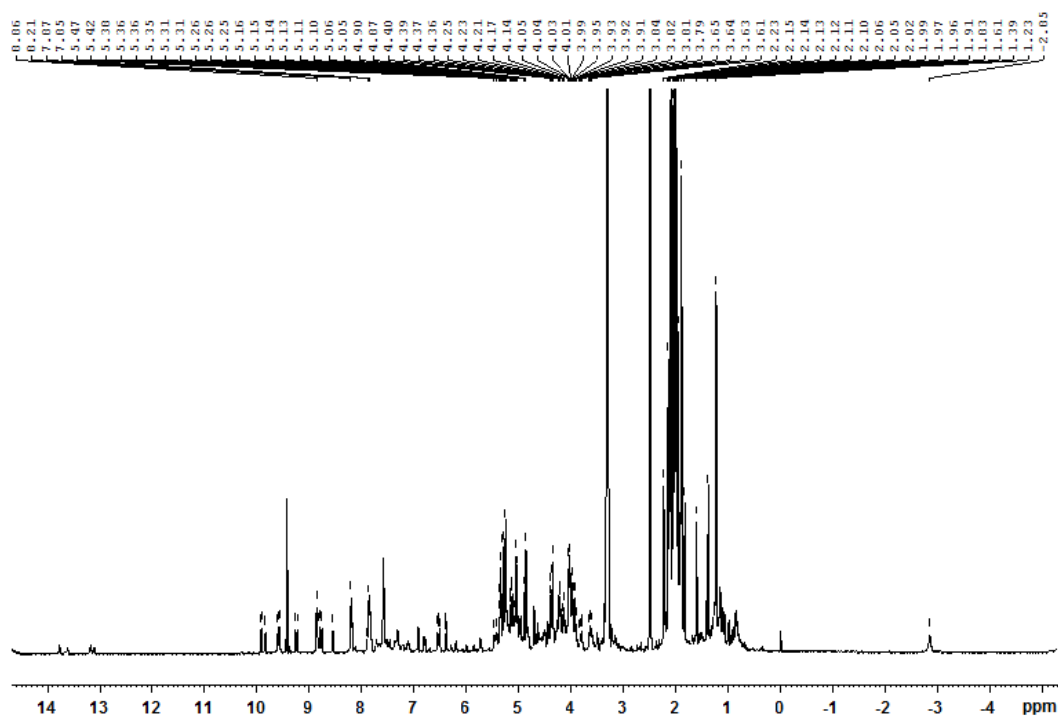
UV-vis do composto **36a**:



Composto **36b**: 5,15-[bis(fenil)]-10-[1''-C-1'',2''-didesoxi-(1''*E*)-1''-enil-3''-(2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetil-1'''-*O*-β-D-galactopiranosil)-5'',6''-di-*O*-acetil-D-xilitol]-20-[1'-C-(1'*S*)-1',2',3',5'-tetra-*O*-acetil-3'-(2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetil-1'''-*O*-β-D-galactopiranosil)-D-xilitol]porfirina

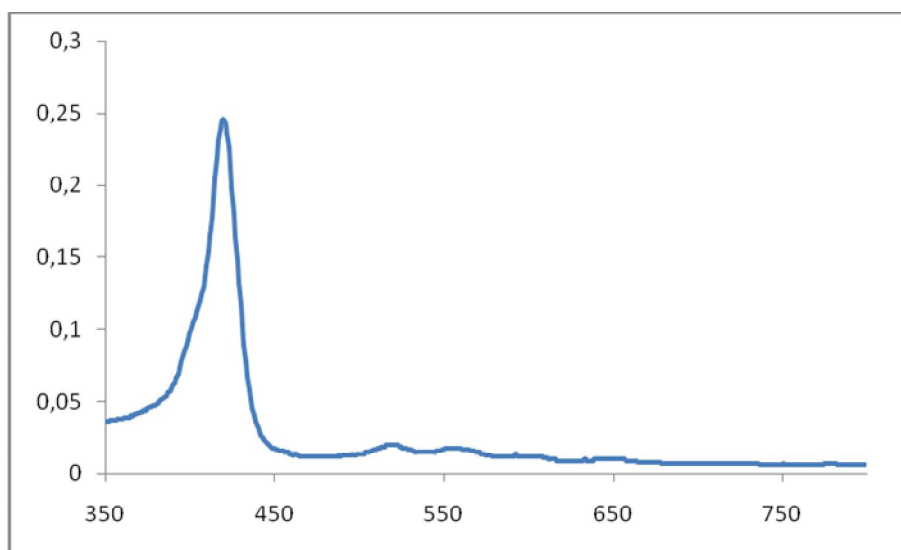


RMN de  $^1\text{H}$  do composto **36b**:

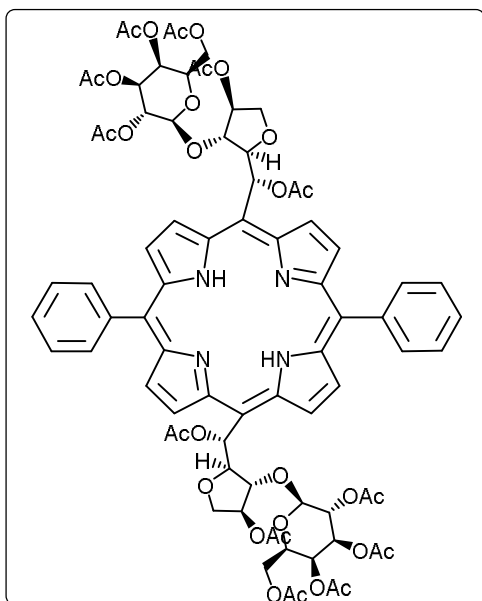




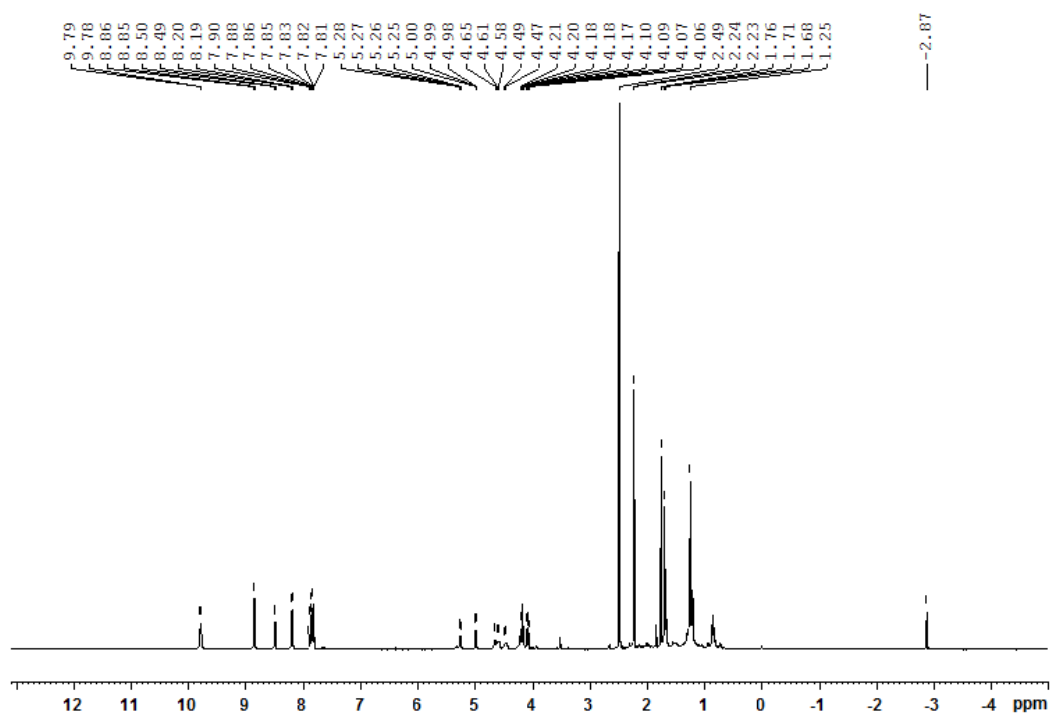
UV-vis do composto **36b**:



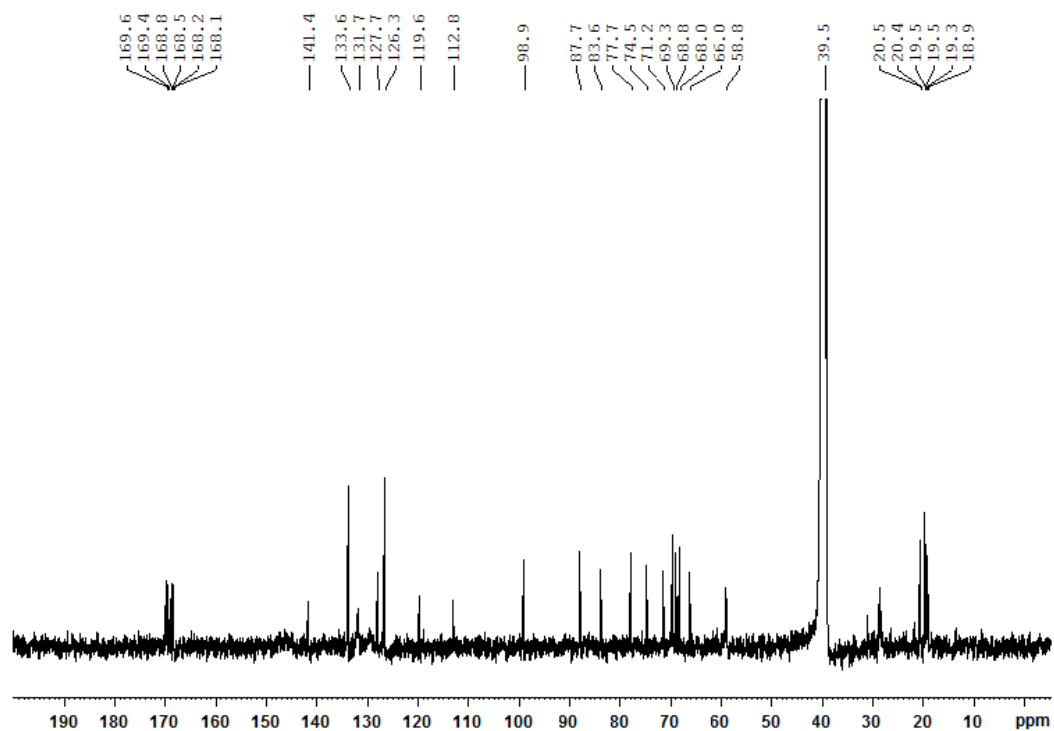
Composto **37**: 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'R)-1',4'-di-O-acetil-2',5'-anidro-3'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil-1''-O-β-D-galactopiranosil)-D-lixitol)]porfirina (**37**)



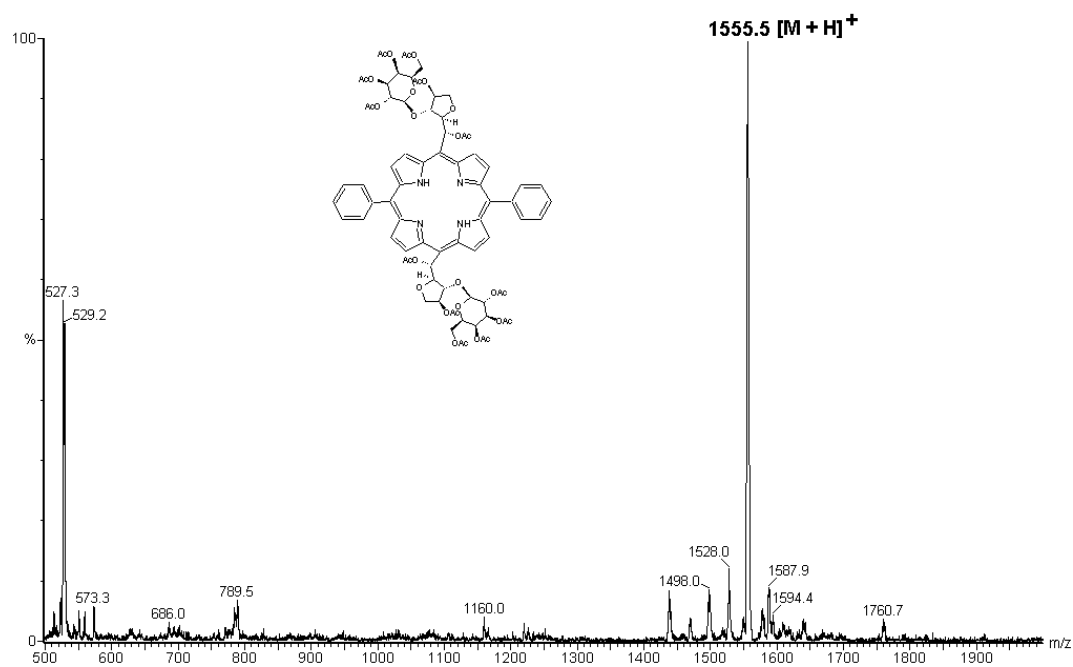
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **37**:



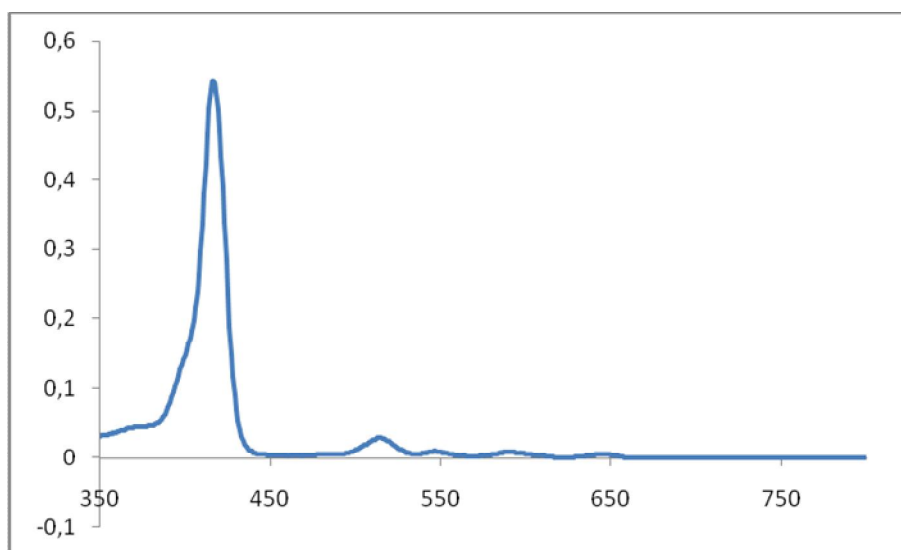
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **37**:



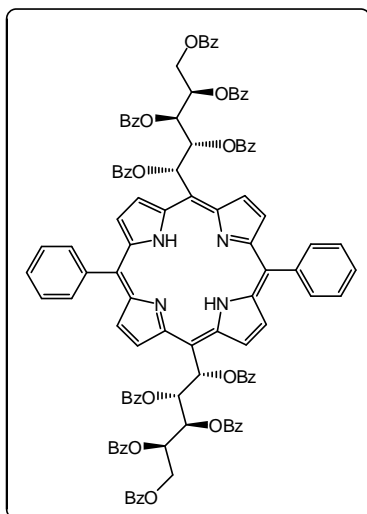
MALDI-TOF do composto **37**:



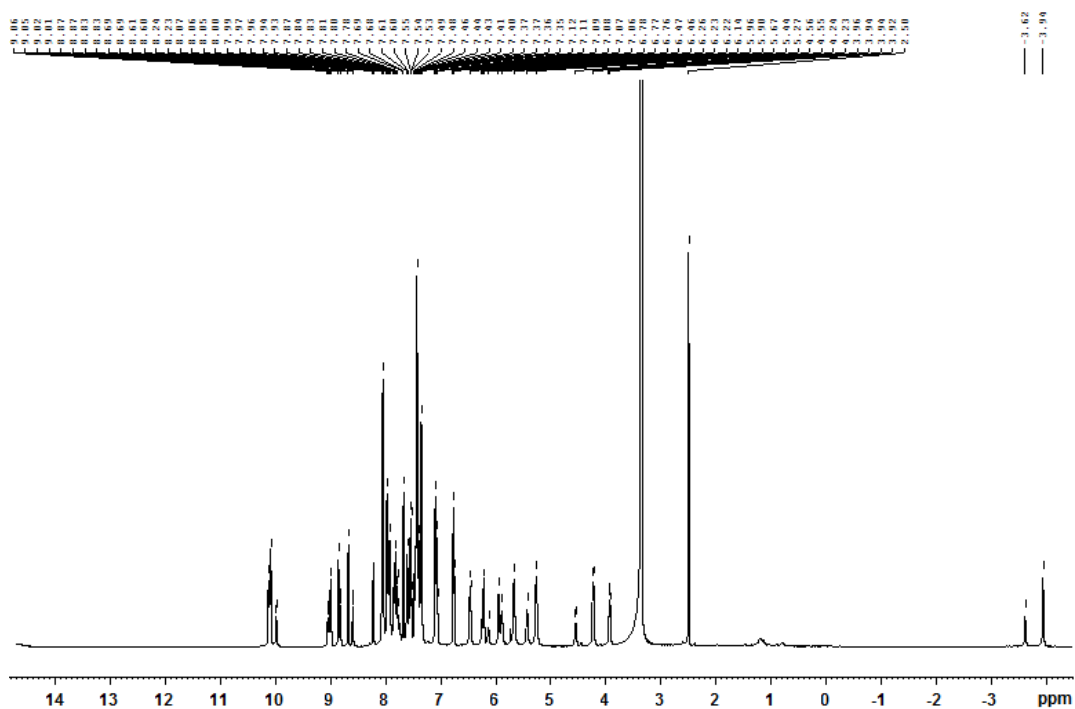
UV-vis do composto **37**:



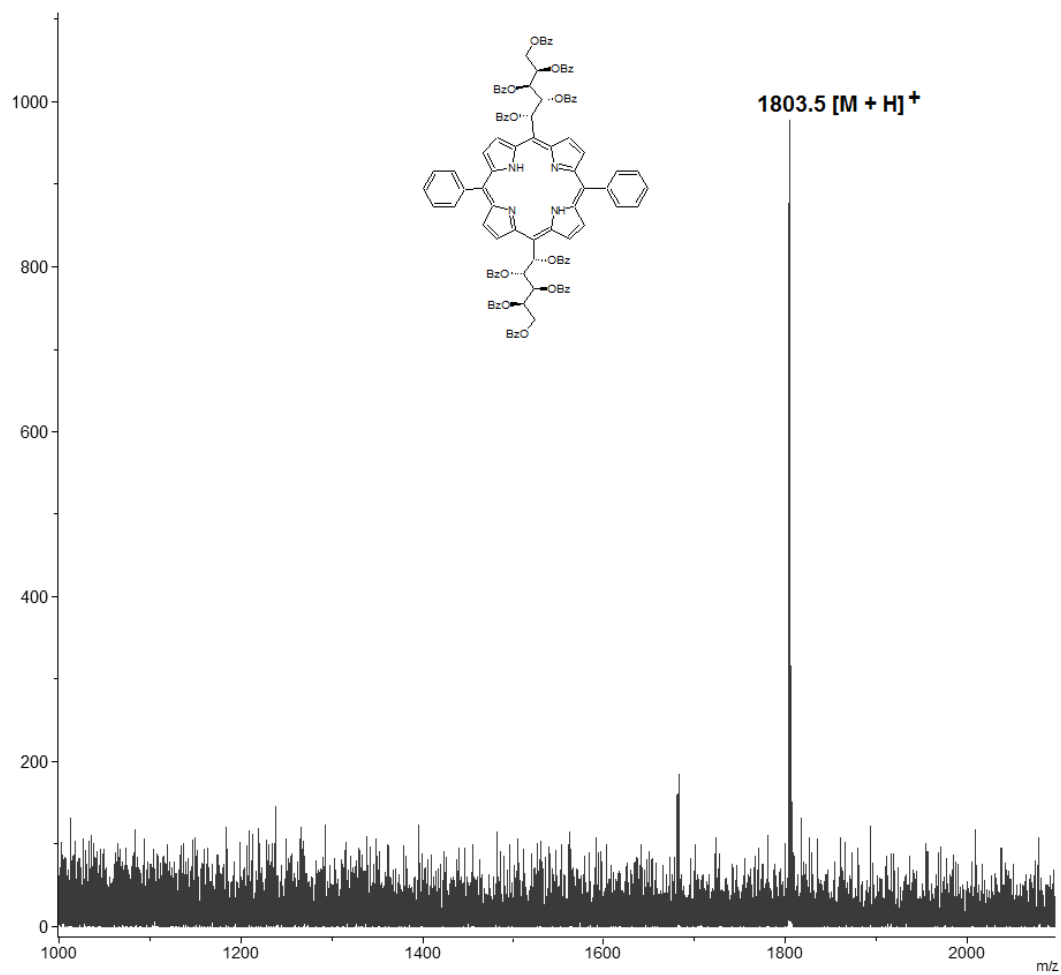
Composto **38a**: 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-benzoil- D-lixitol)]porfirina (**38a**)



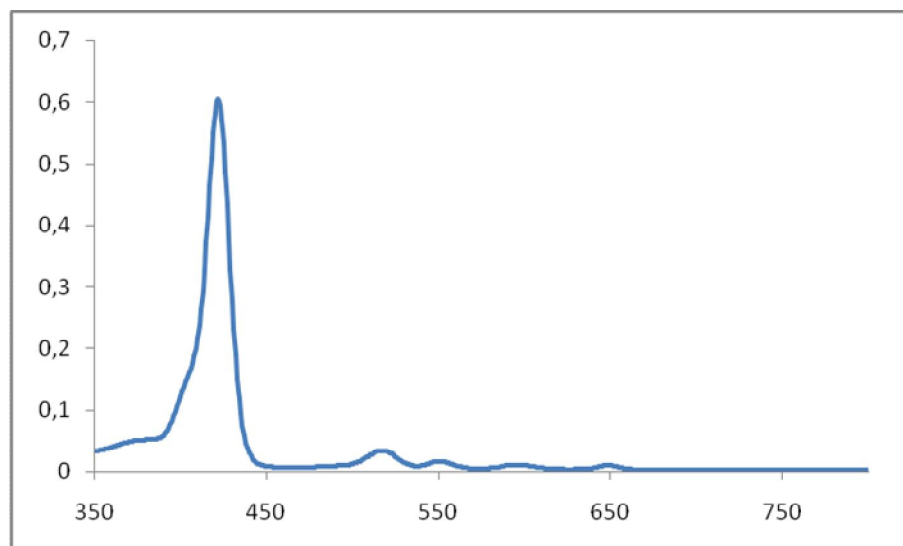
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **38a**:



MALDI-TOF do composto **38a**:



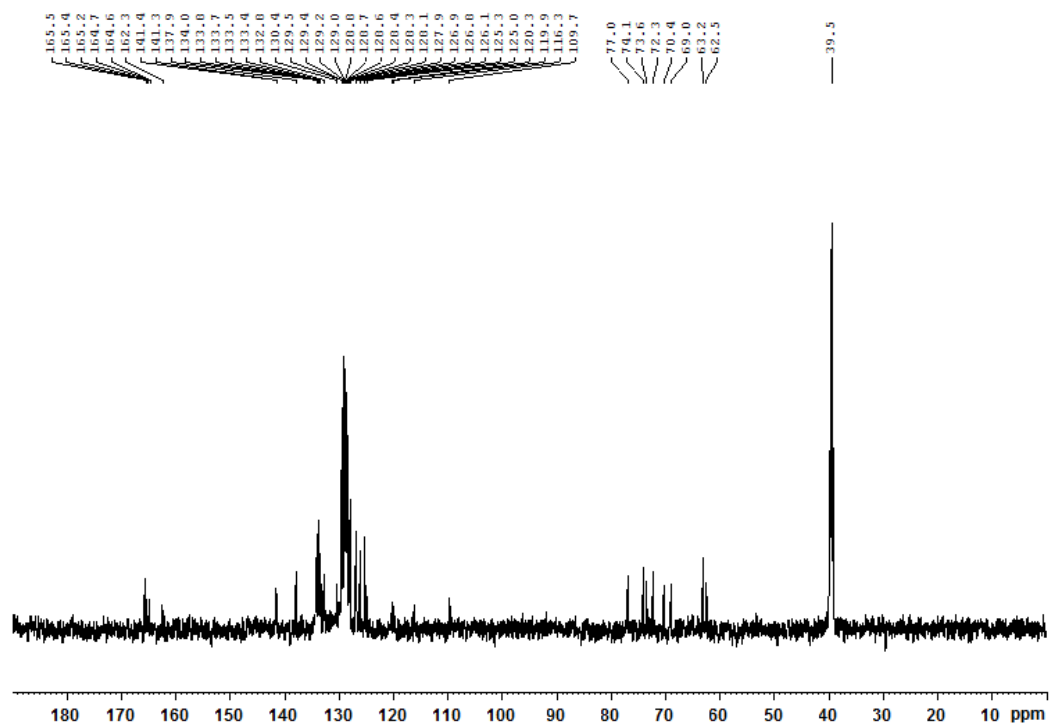
UV-vis do composto **38a**:



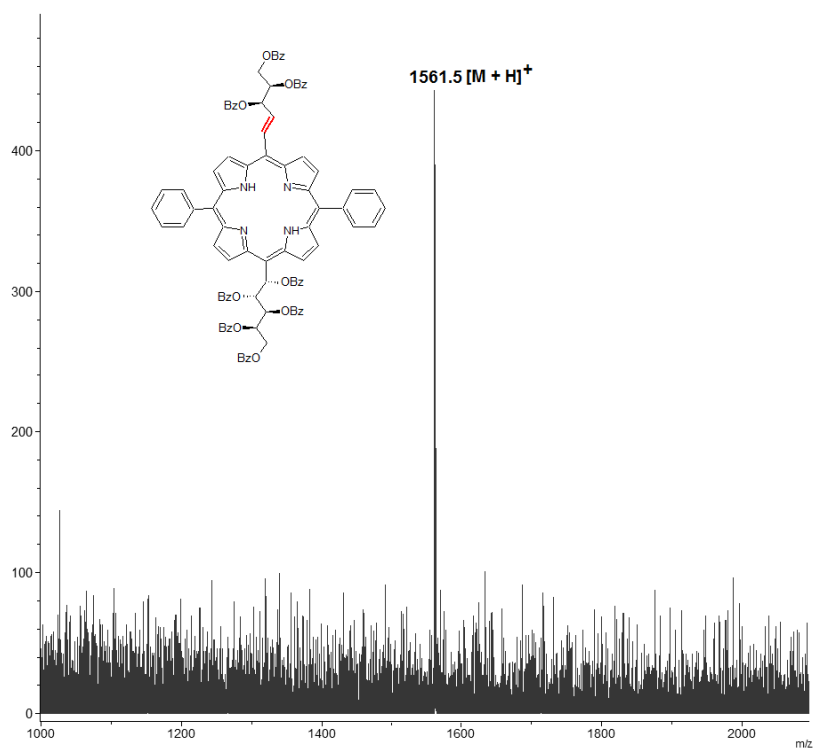
The chemical structure shows a macrocyclic compound with a central 18-membered ring. The ring contains two NH groups and two N atoms. It is substituted with two phenyl groups and two side chains. Each side chain is a 1,2,3-trisubstituted propyl group with OBz, BzO, and OBz substituents.

[illegible]

RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **38b**:

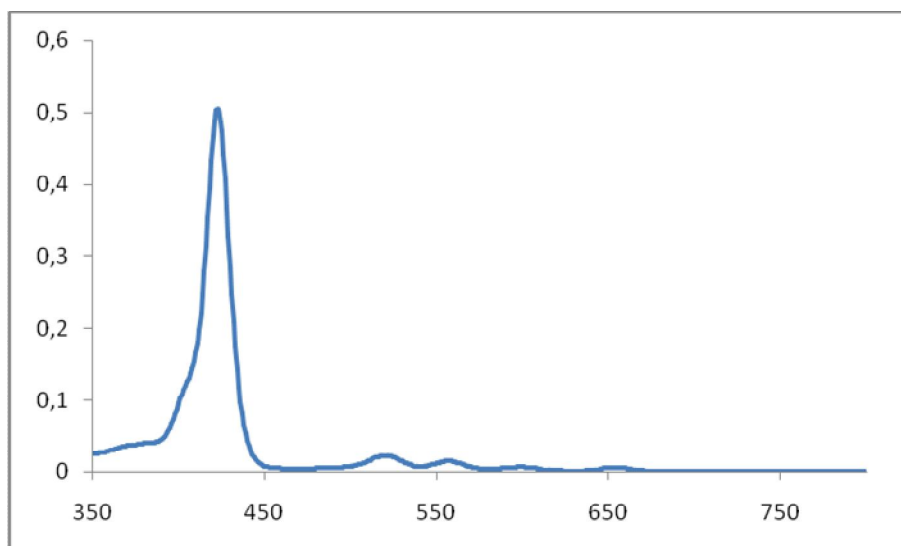


MALDI-TOF do composto **38b**:

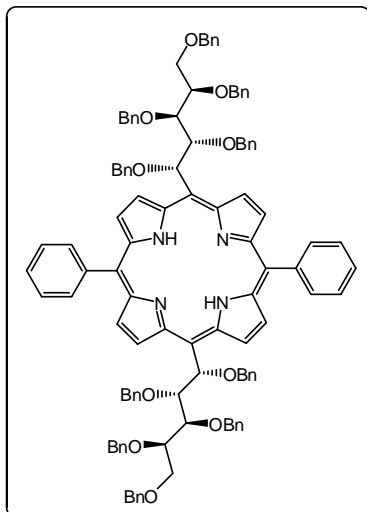




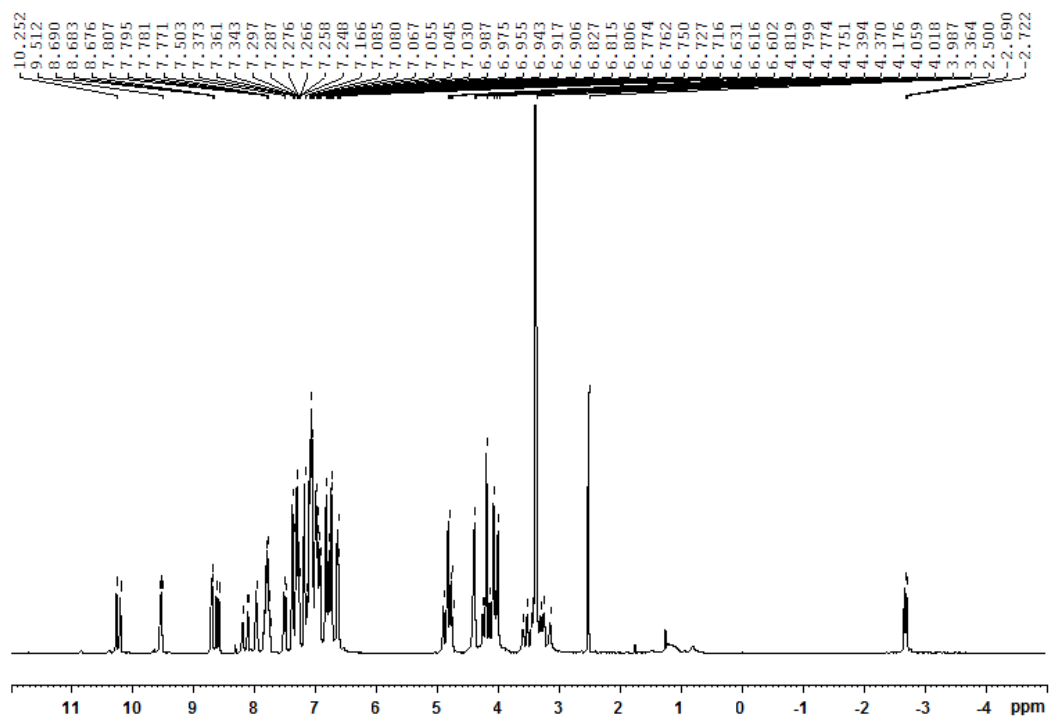
UV-vis do composto **38b**:



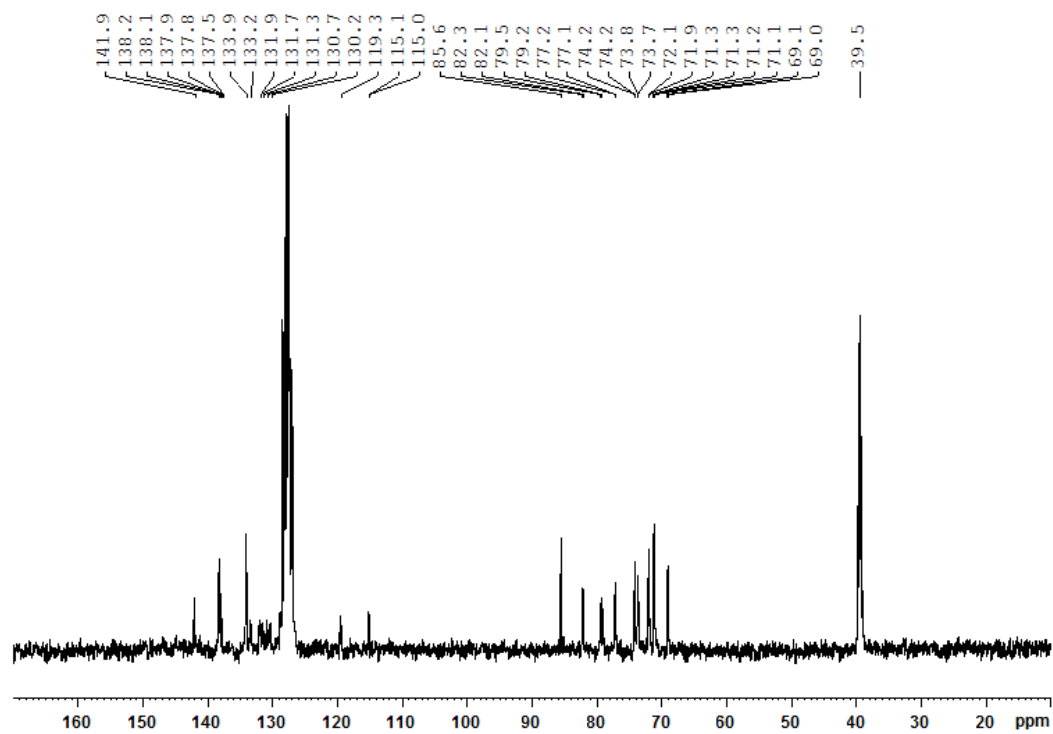
Composto **39**: 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-benzil-D-lixitol)]porfirina



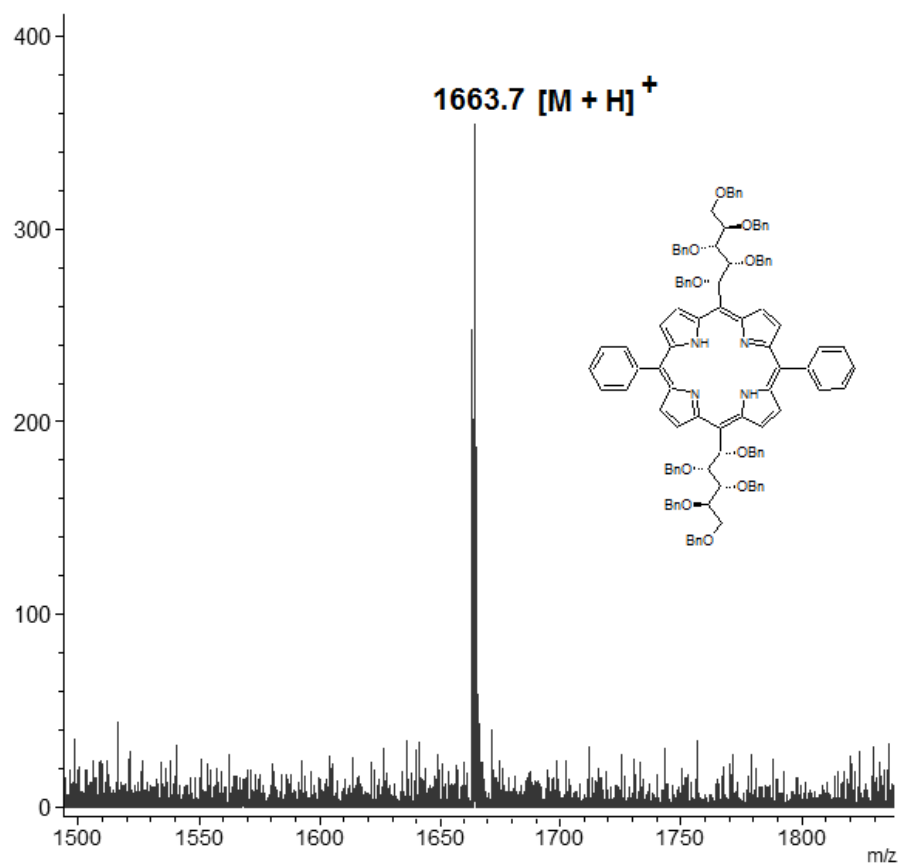
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **39**:



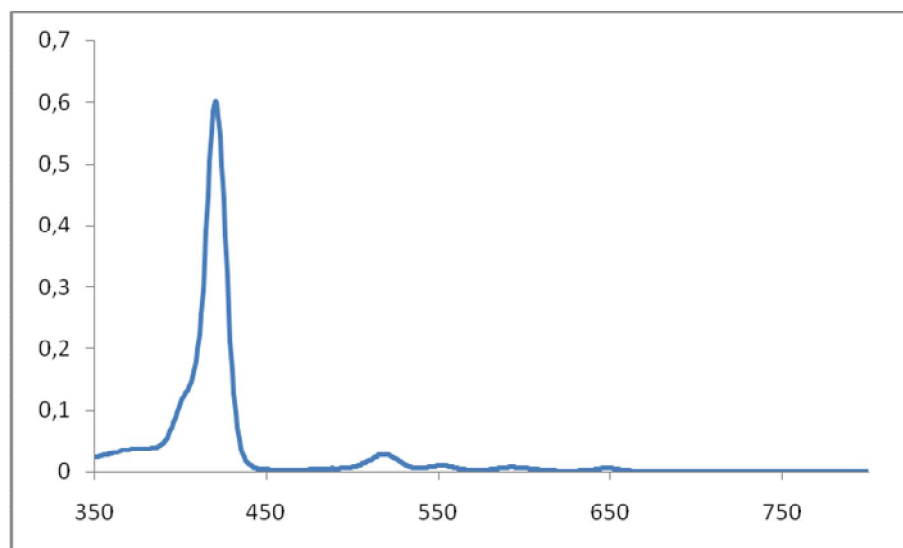
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **39**:



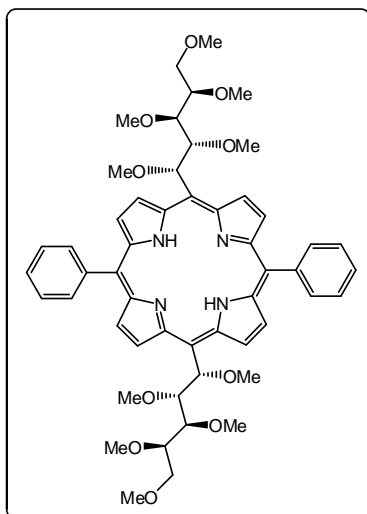
MALDI-TOF do composto **39**:



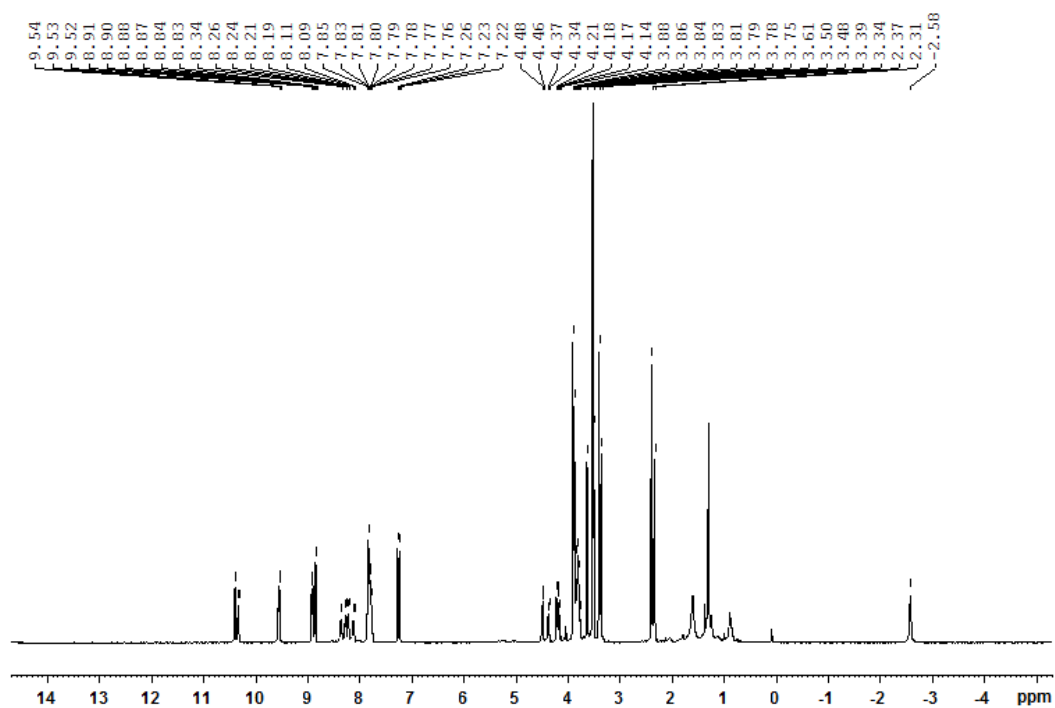
UV-vis do composto **39**:



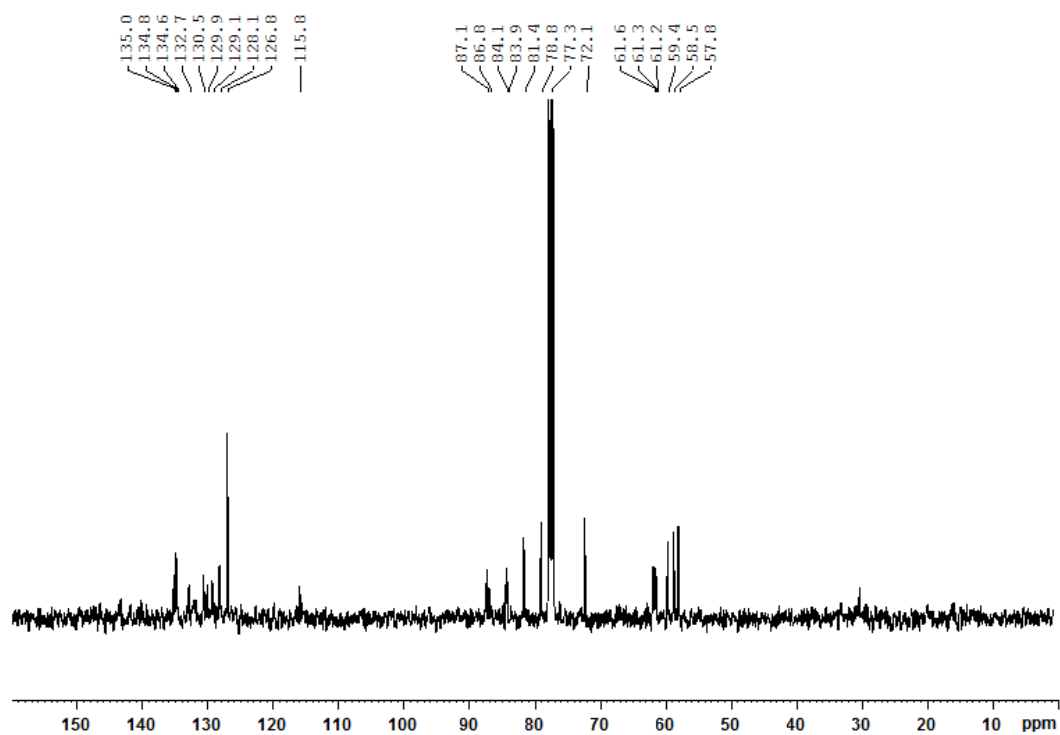
Composto **40**: 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-metil-D-lixitol)]porfirina



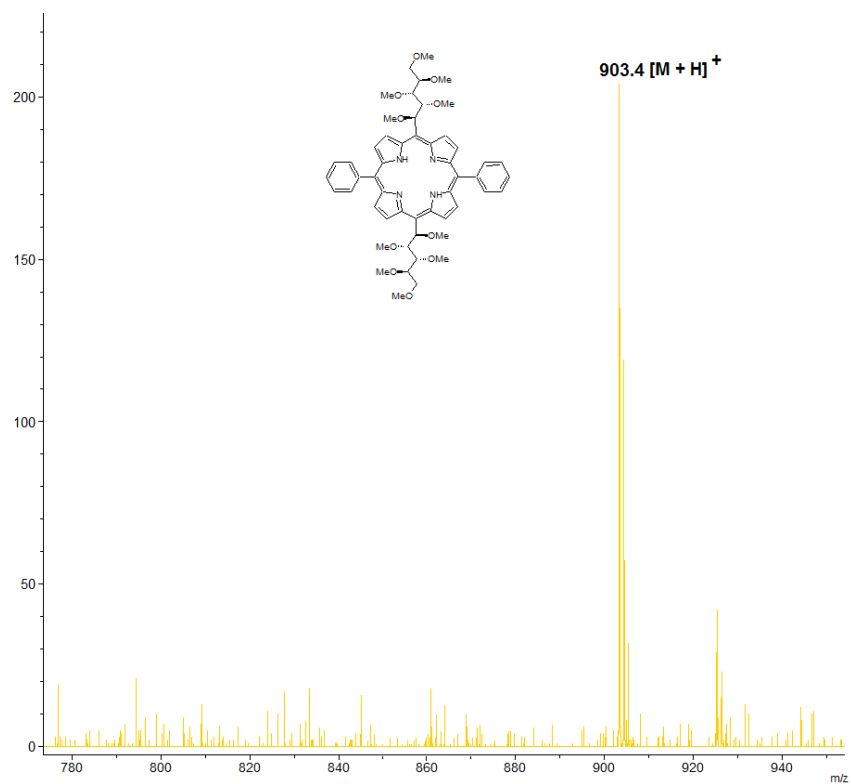
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **40**:



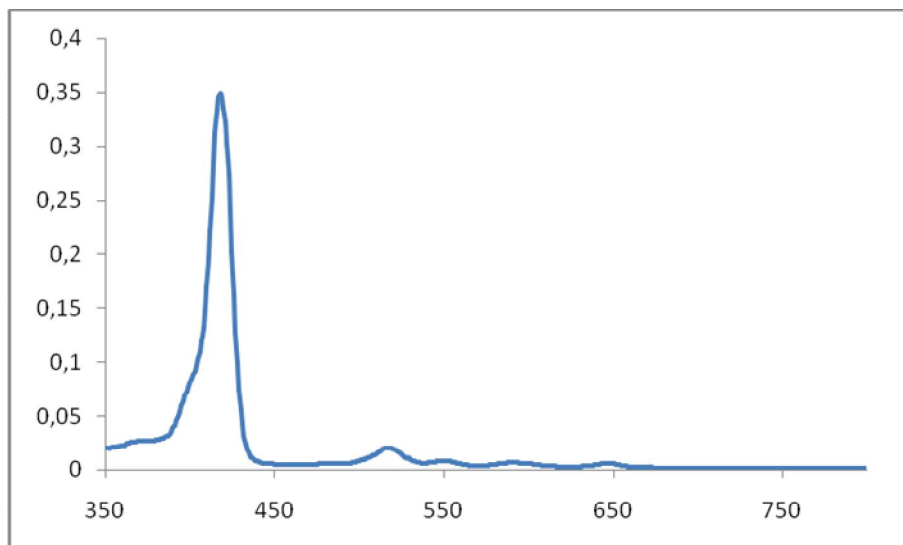
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **40**:



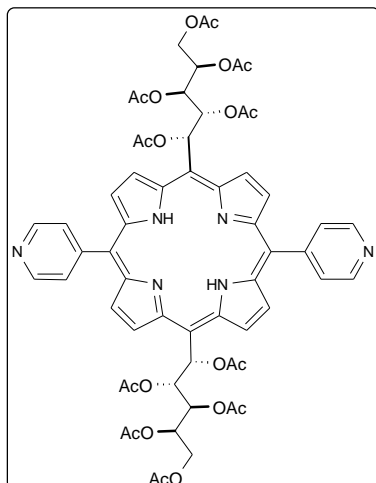
MALDI-TOF do composto **40**:



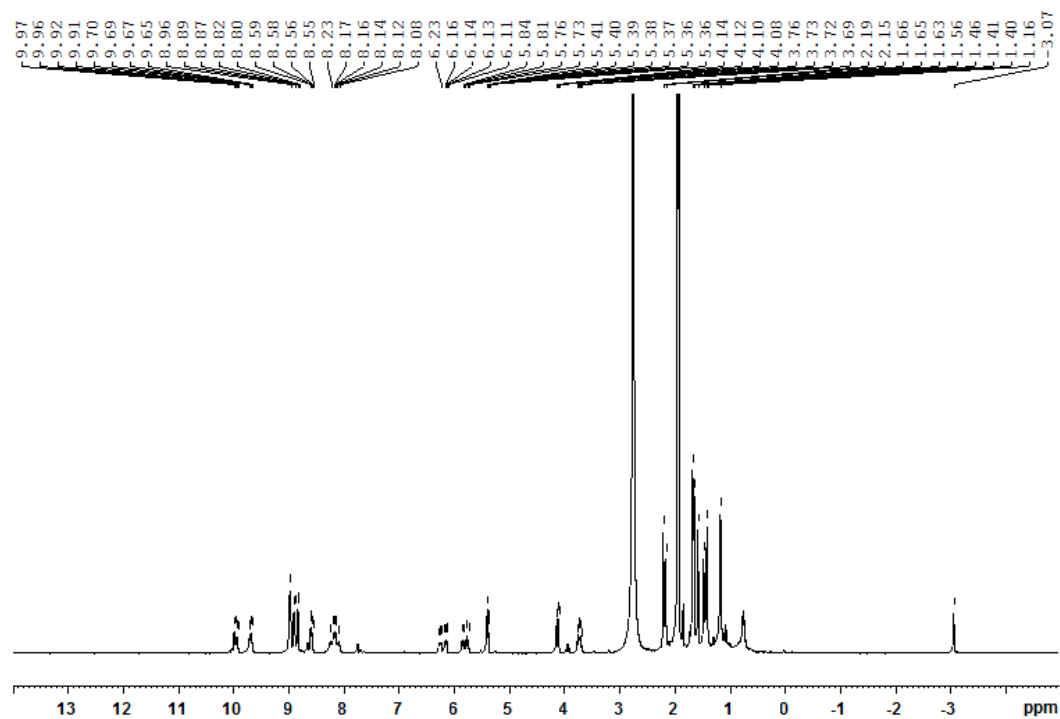
UV-vis do composto **40**:



Composto **41**: 5,15-[bis(4-piridil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (**41**)

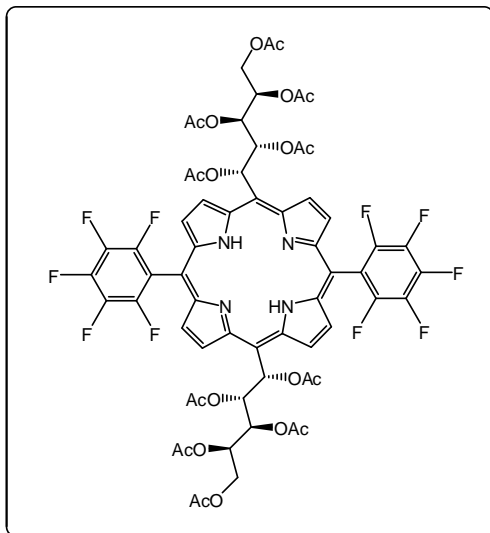


RMN de  $^1\text{H}$  do composto **41**:

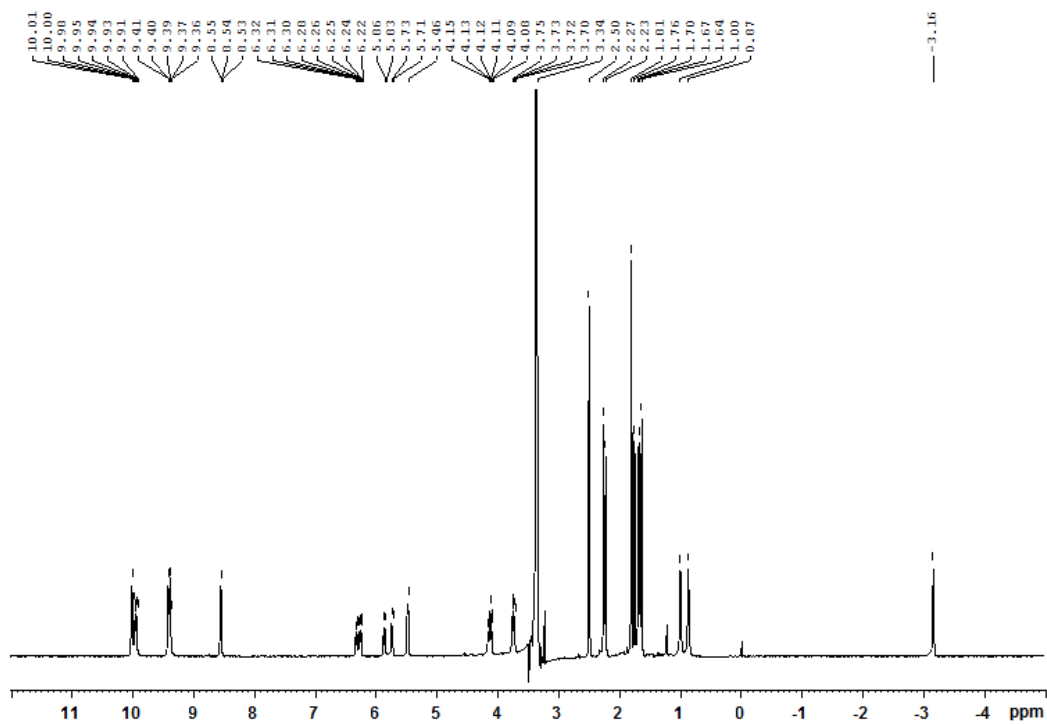




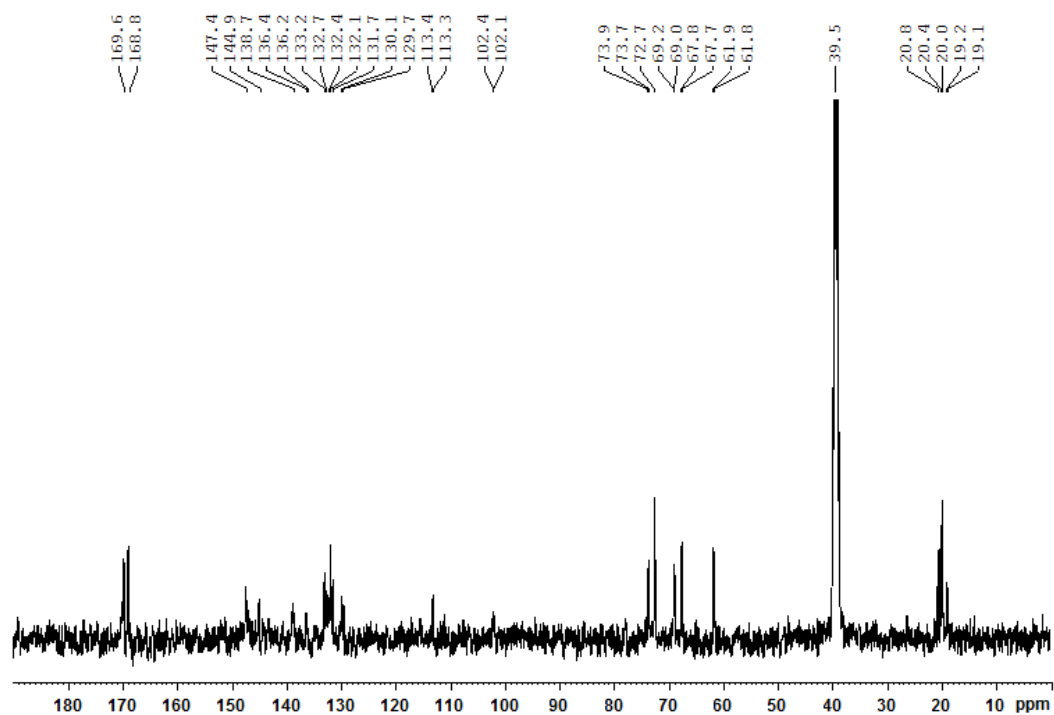
Composto **42**: 5,15-[bis(pentafluorfenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina



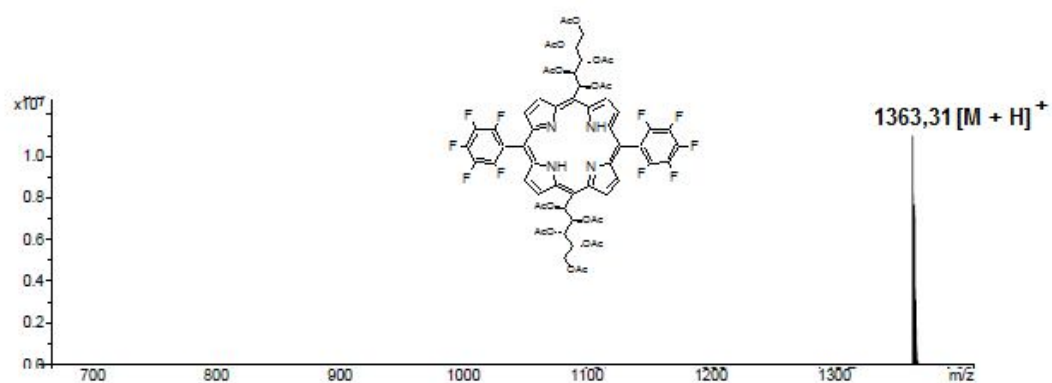
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **42**:



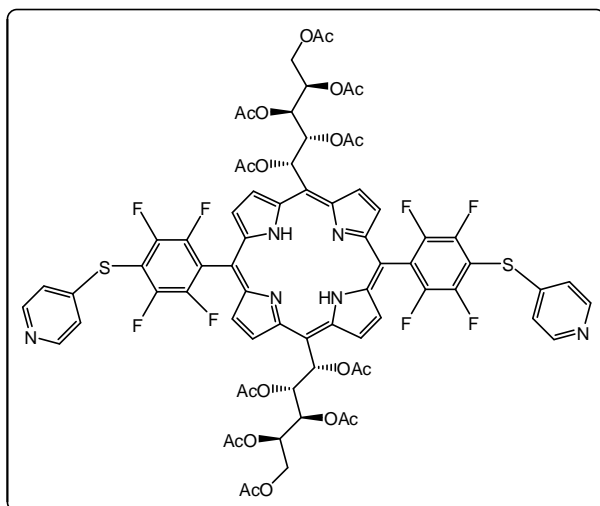
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **42**:



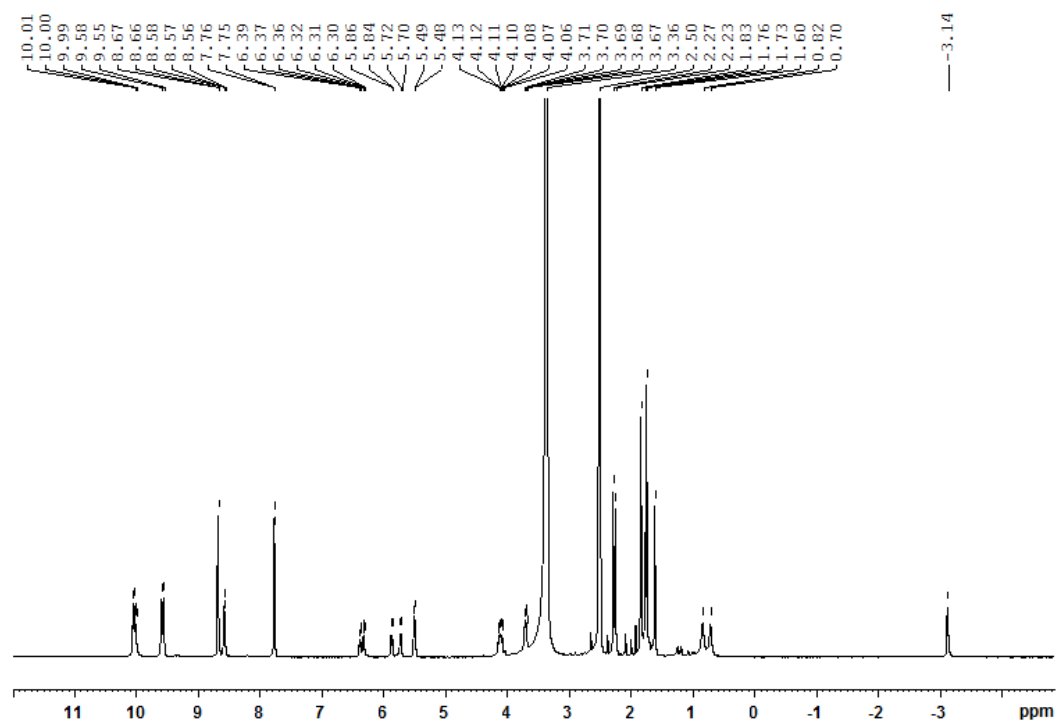
HRMS (ESI) do composto **42**:



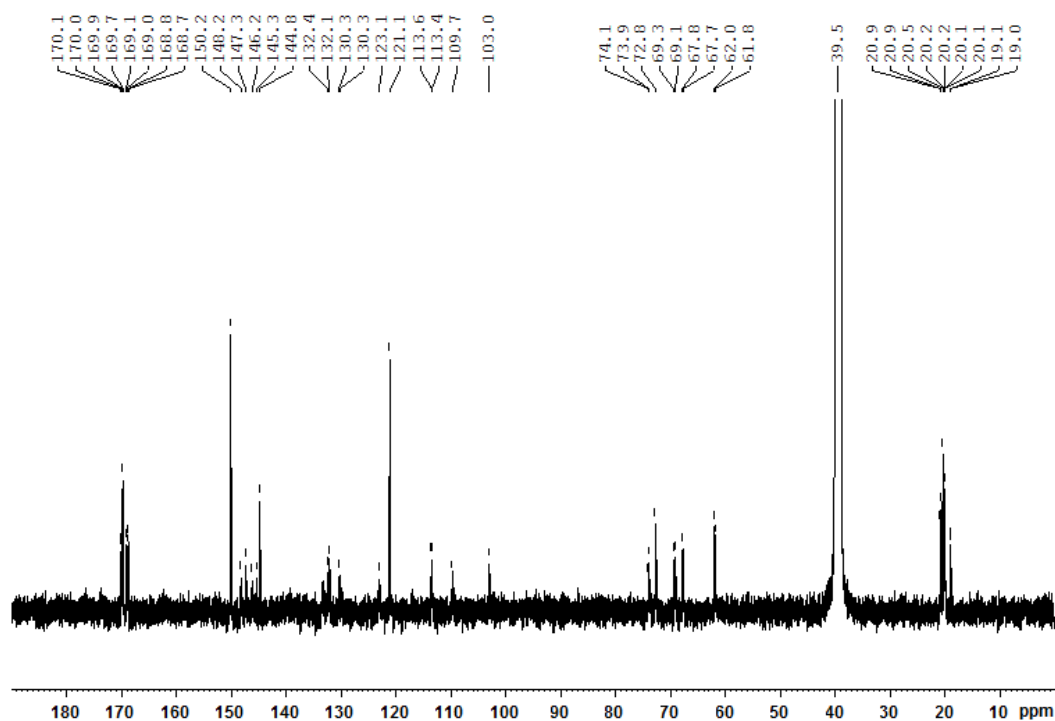
Composto **43**: 5,15-[bis(2,3,5,6-tetrafluor-4-(4-piridilsulfonil)fenil)-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]porfirina (**43**)



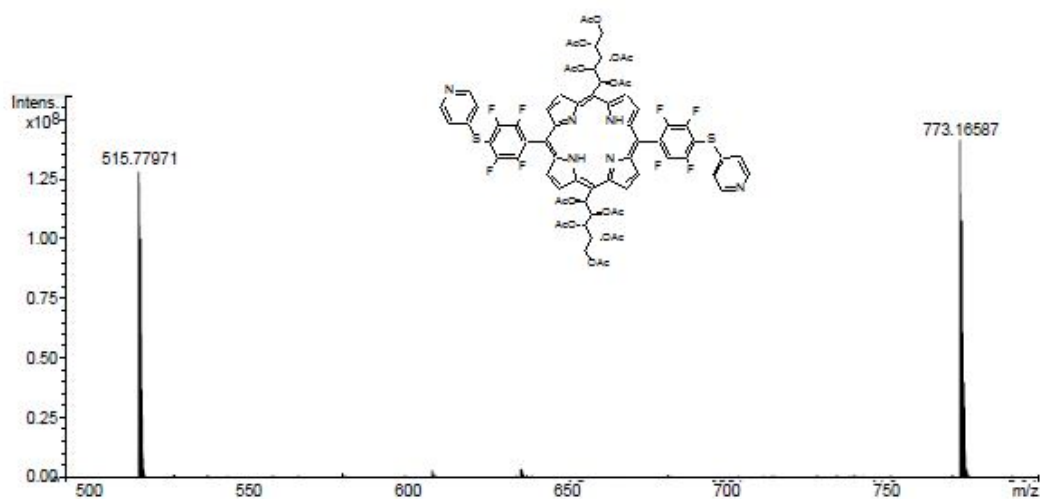
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **43**:



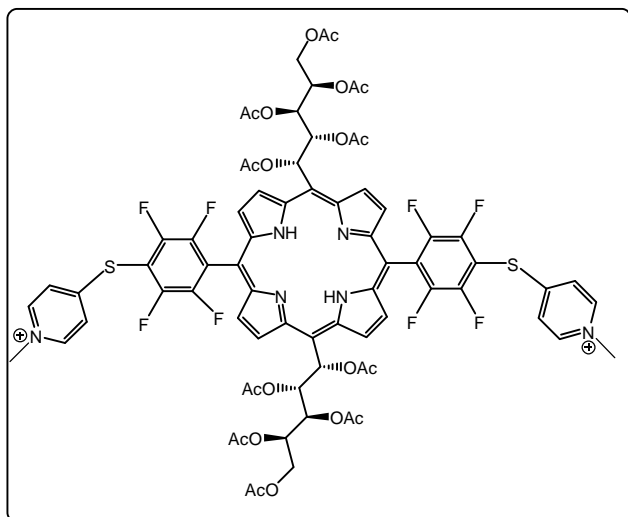
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **43**:



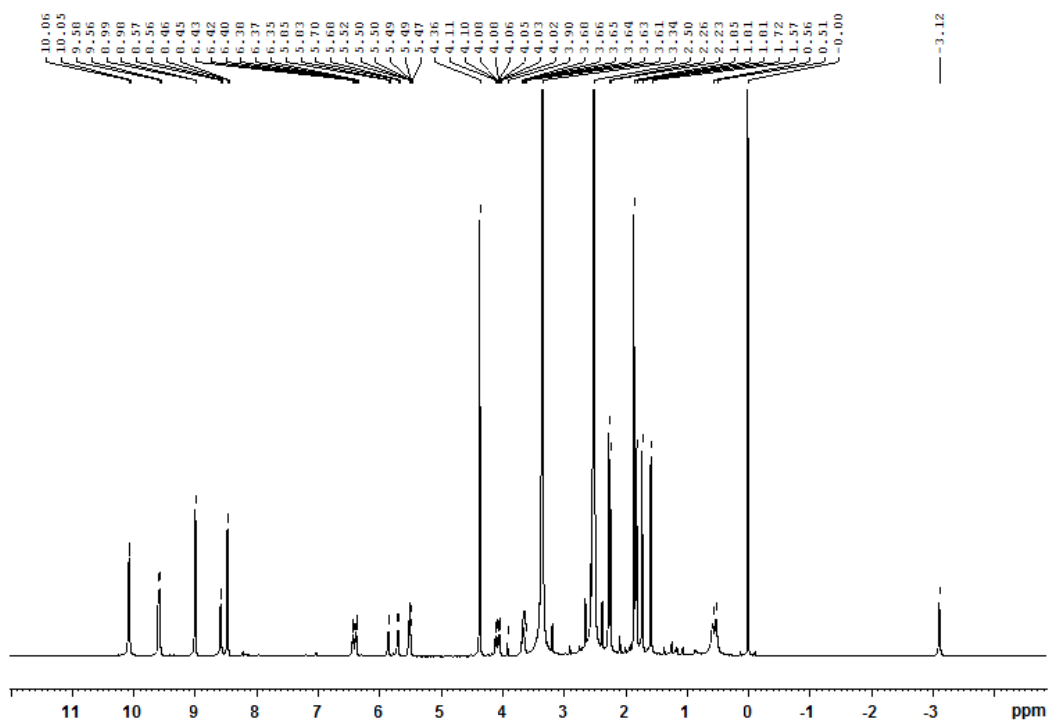
HRMS (ESI) do composto **43**:



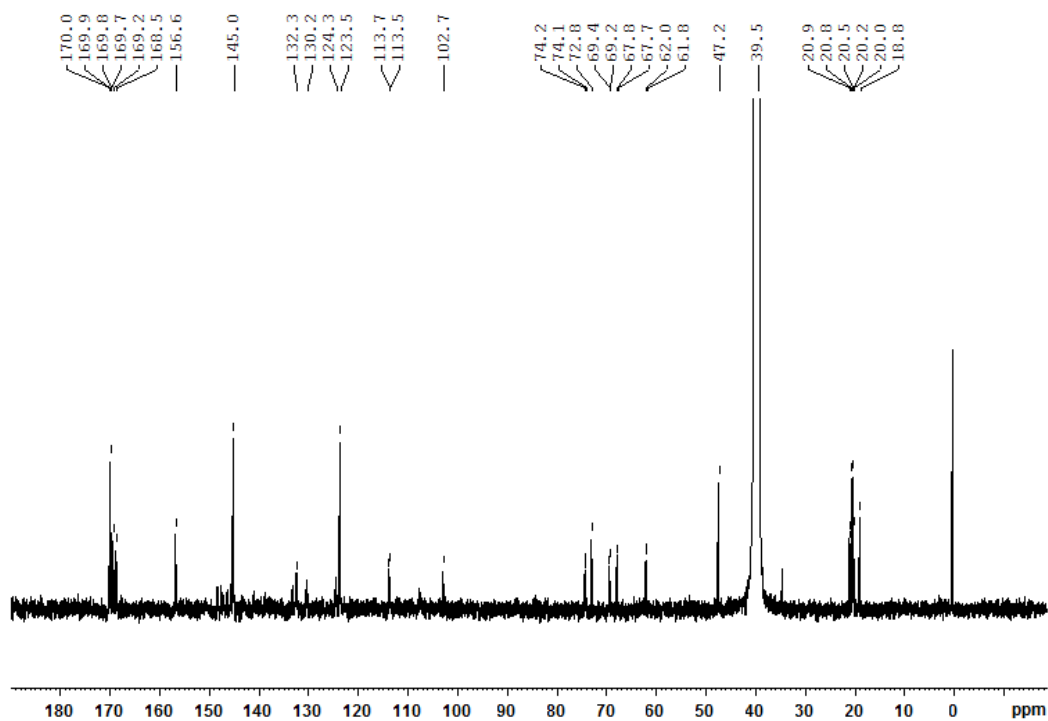
Composto **44**: Diiodeto de 5,15-[bis(2,3,5,6-tetrafluor-4-(*N*-metilpiridínio-4-ilsulfonil)fenil]-10,20-[bis(1'-C-(1'*S*)-1',2',3',4',5'-penta-*O*-acetil-D-lixitol)]porfirina



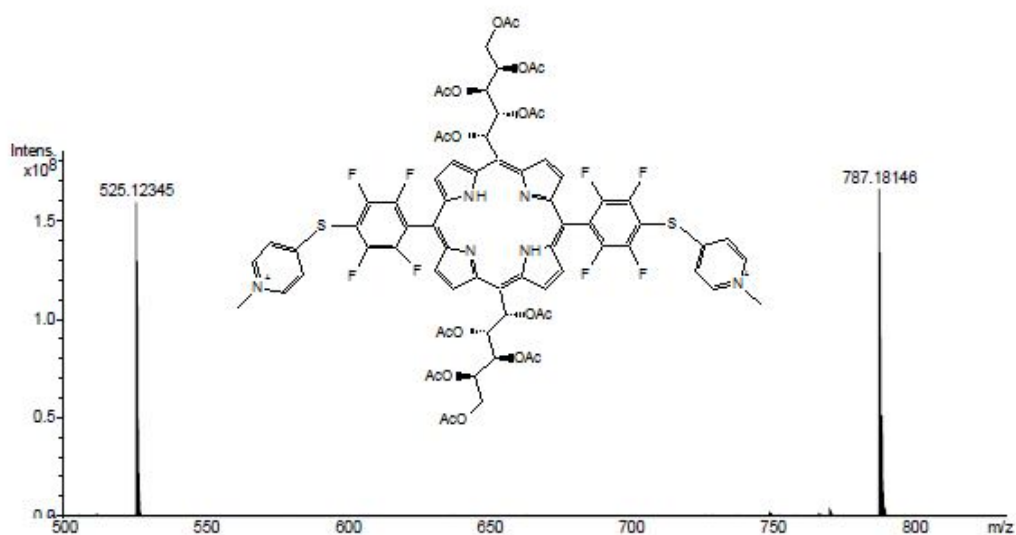
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **44**:



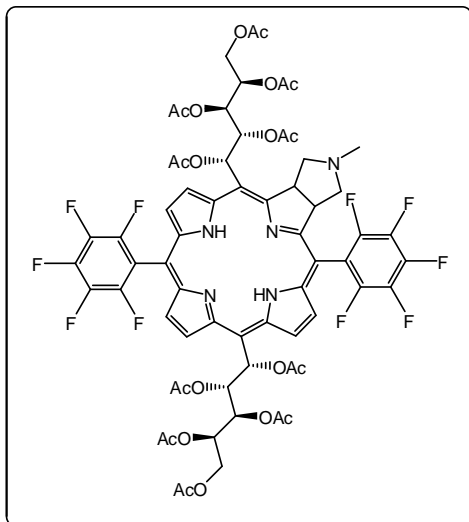
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **44**:



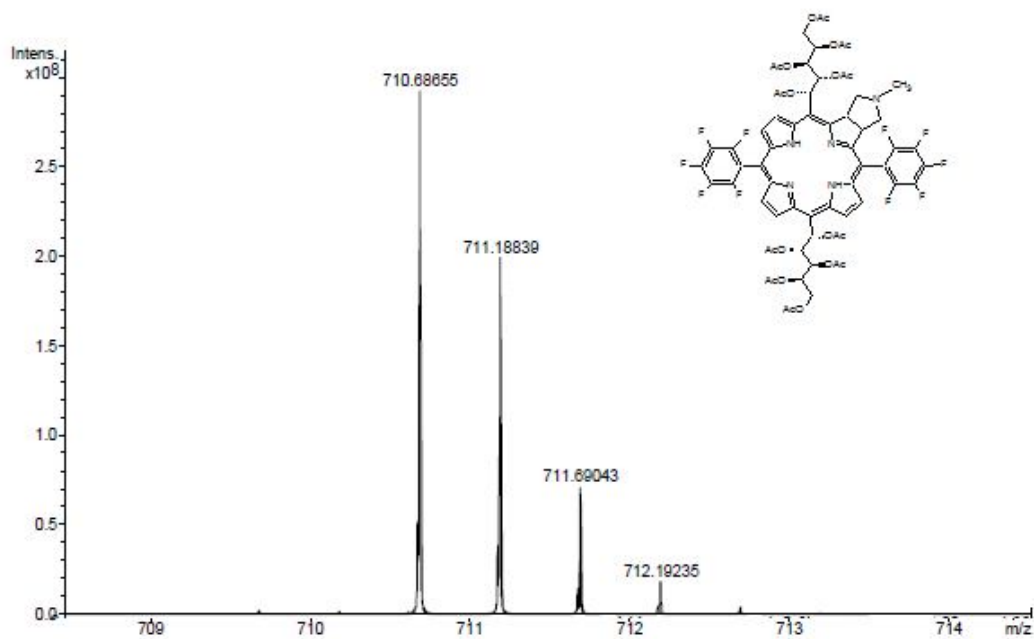
HRMS (ESI) do composto **44**:



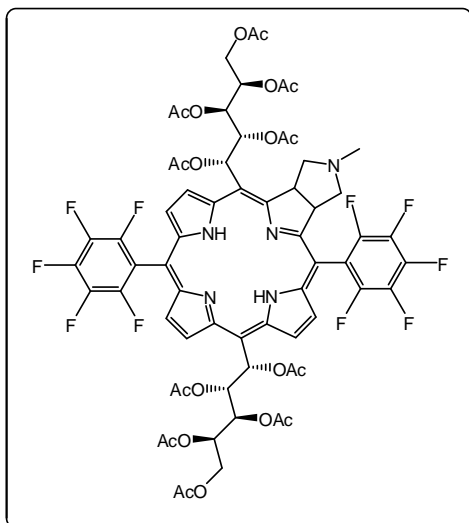
Composto **45a**: 5,15-[bis(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]-12, 13-[(c)-(N-metil-pirrolidinil)]clorina



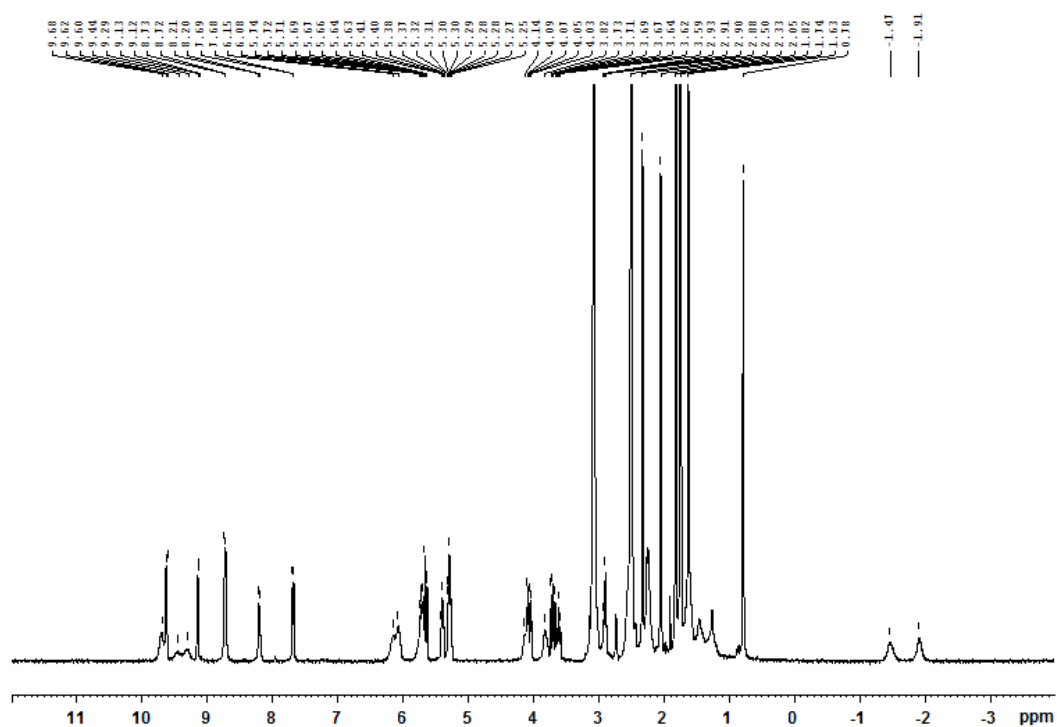
HRMS (ESI) do composto **45a**:



Composto **45b**: 5,15-[bis(2,3,4,5,6-pentafluorfenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-1',2',3',4',5'-penta-O-acetil-D-lixitol)]-12, 13-[(c)-(N-metil-pirrolidinil)]clorina

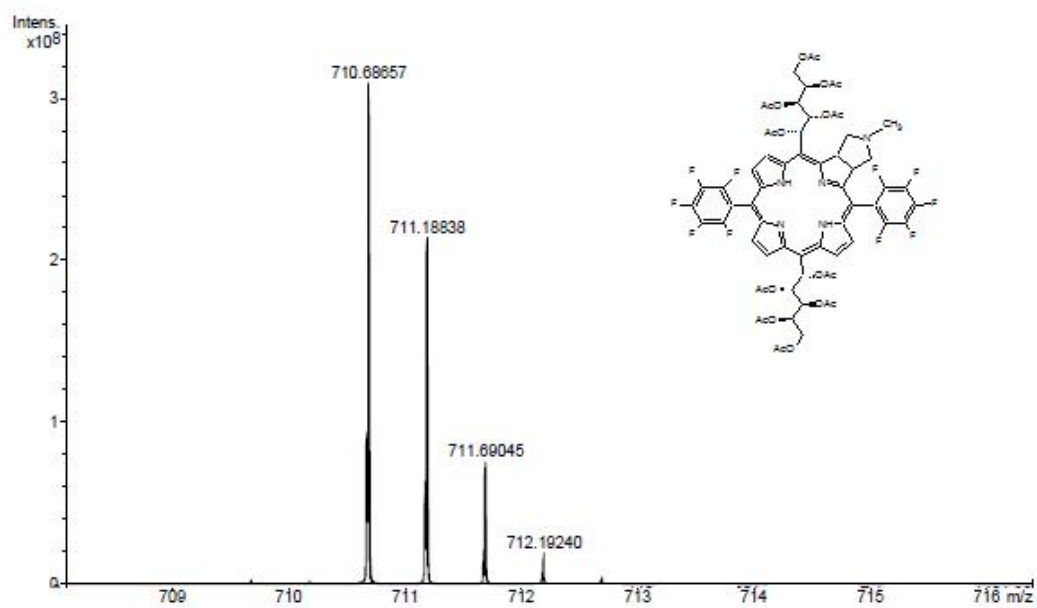


RMN de  $^1\text{H}$  do composto **45b**:

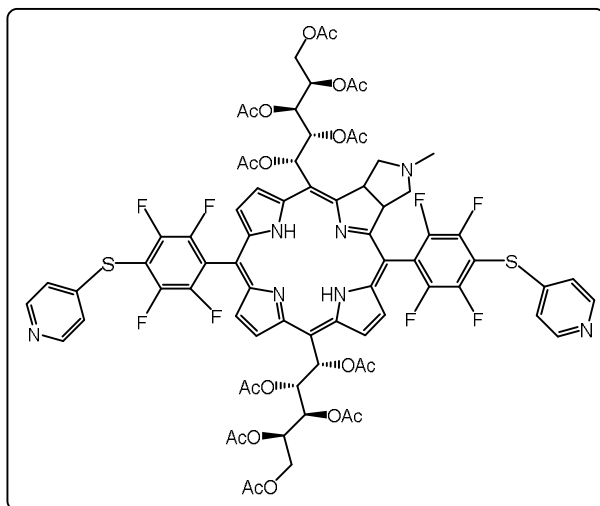




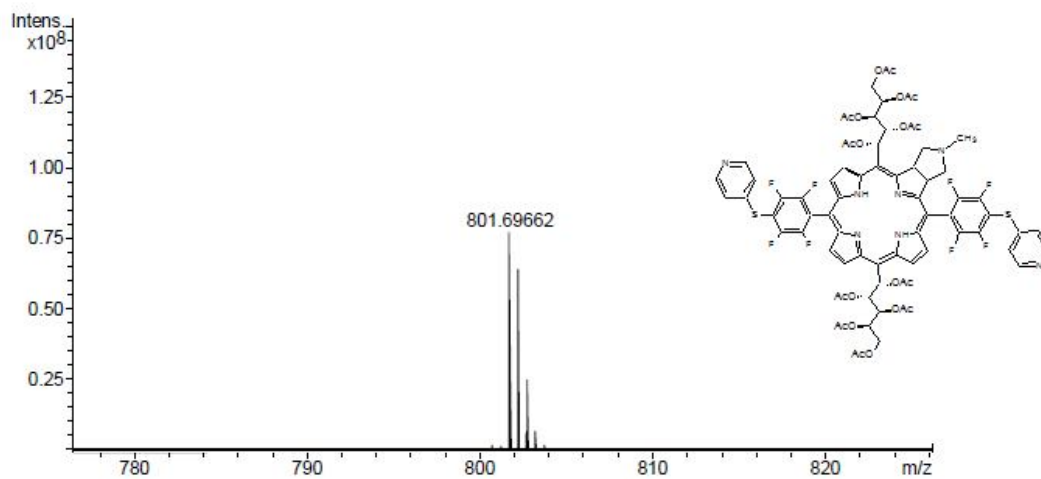
HRMS (ESI) do composto **45b**:



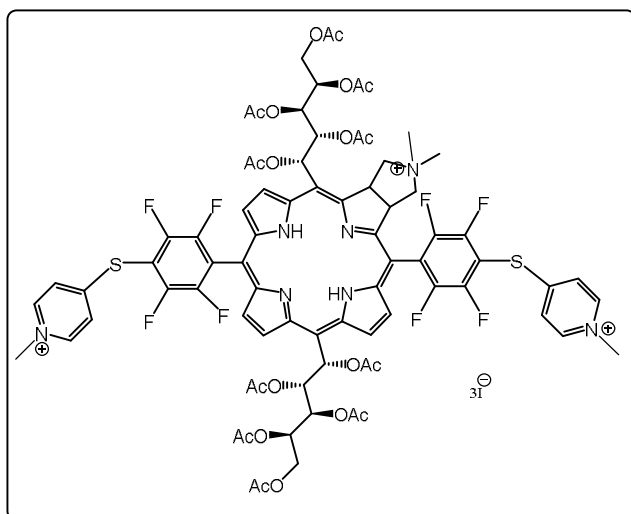
Composto **47**: 5,15-[bis(2,3,5,6-tetrafluor-4-(4-piridilsulfonil)fenil)-10,20-[bis(1'-C,1'S)-1',2',3',4',5'-penta- O-acetil-D-lixitol]-12, 13-[(c)-(N-metil-pirrolidinil)]clorina



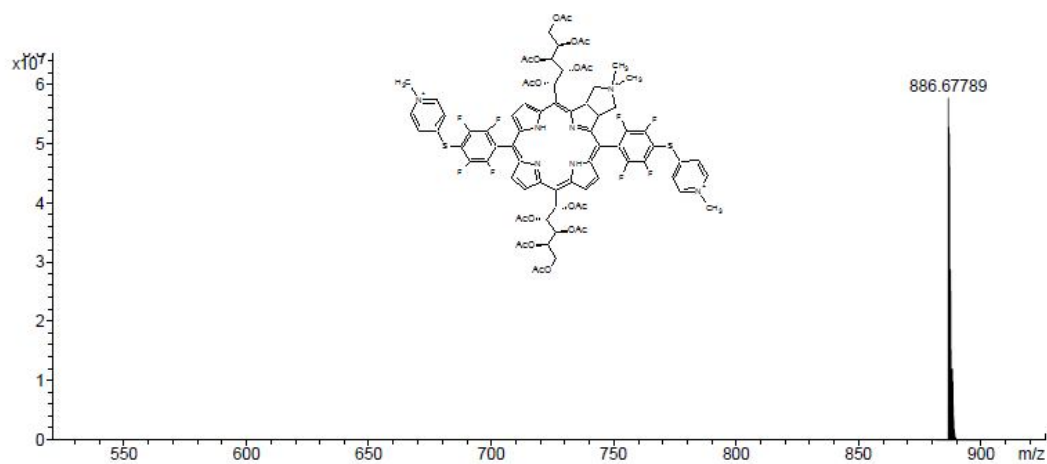
HRMS (ESI) do composto **47**:



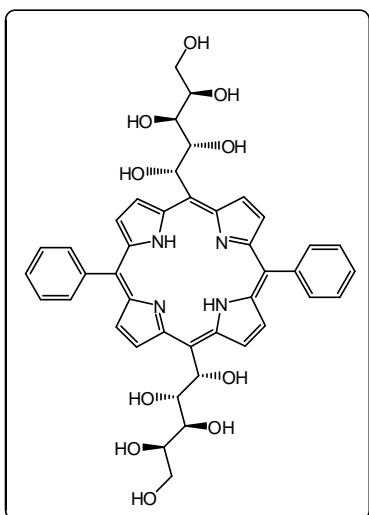
Composto **48**: 5,15-[bis(2,3,5,6-tetrafluor-4-(*N*-metilpiridínio-4-ilsulfonil)fenil)-10,20-[bis(1'-*C*-(1'*S*)-1',2',3',4',5'-penta-*O*-acetil-D-lixitol)]-12,13-[(*c*)-(*N,N*-dimetil-pirrolidínio-1-il)]clorina



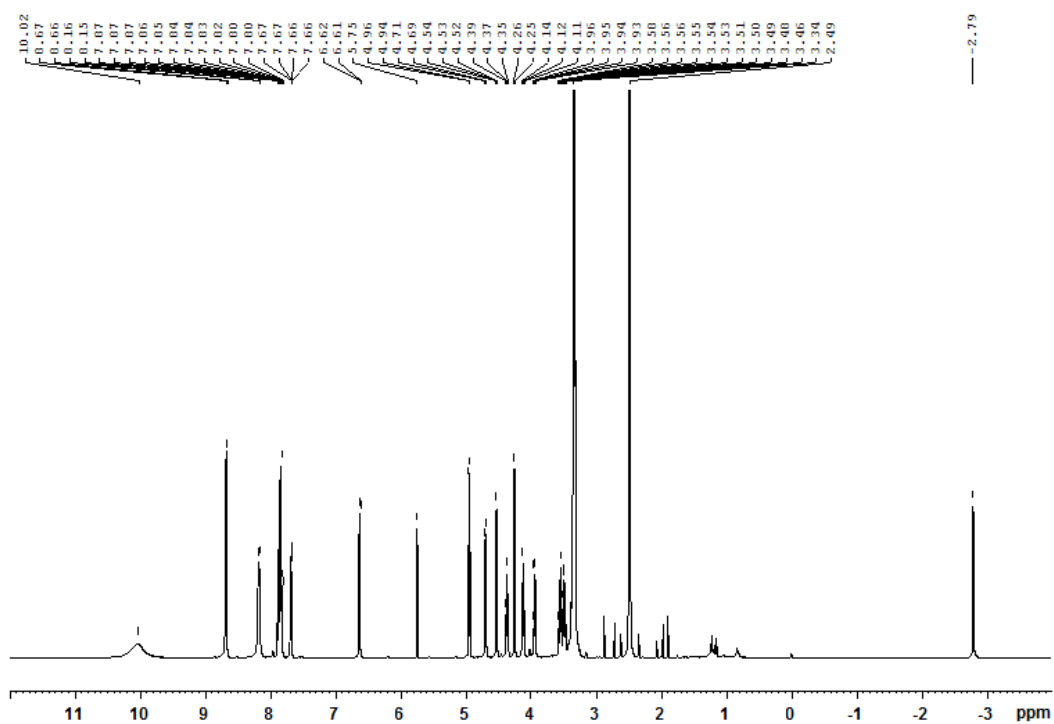
HRMS (ESI) do composto **48**:



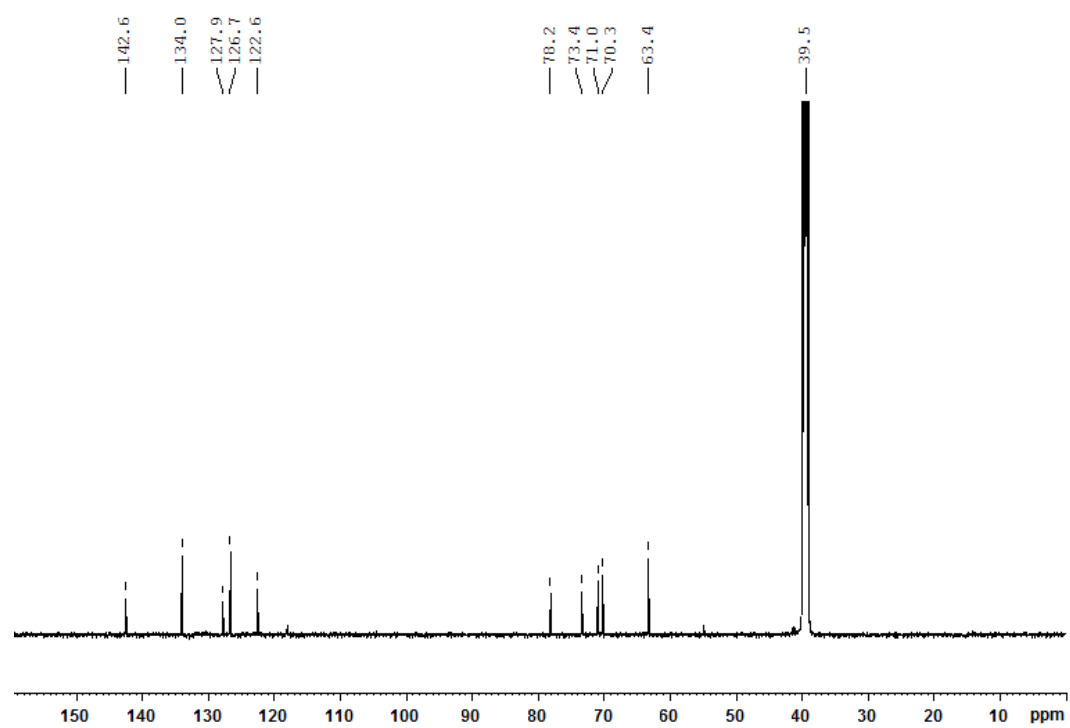
**Composto 49:** 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-D-lixitol)]porfirina



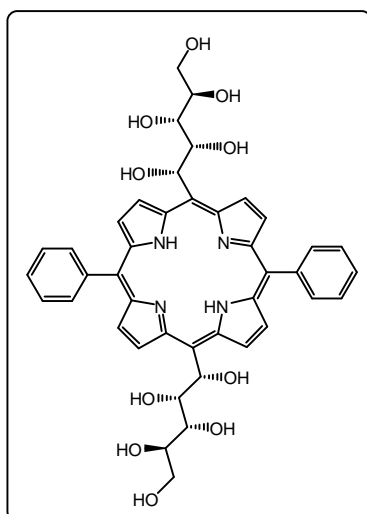
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **49**:



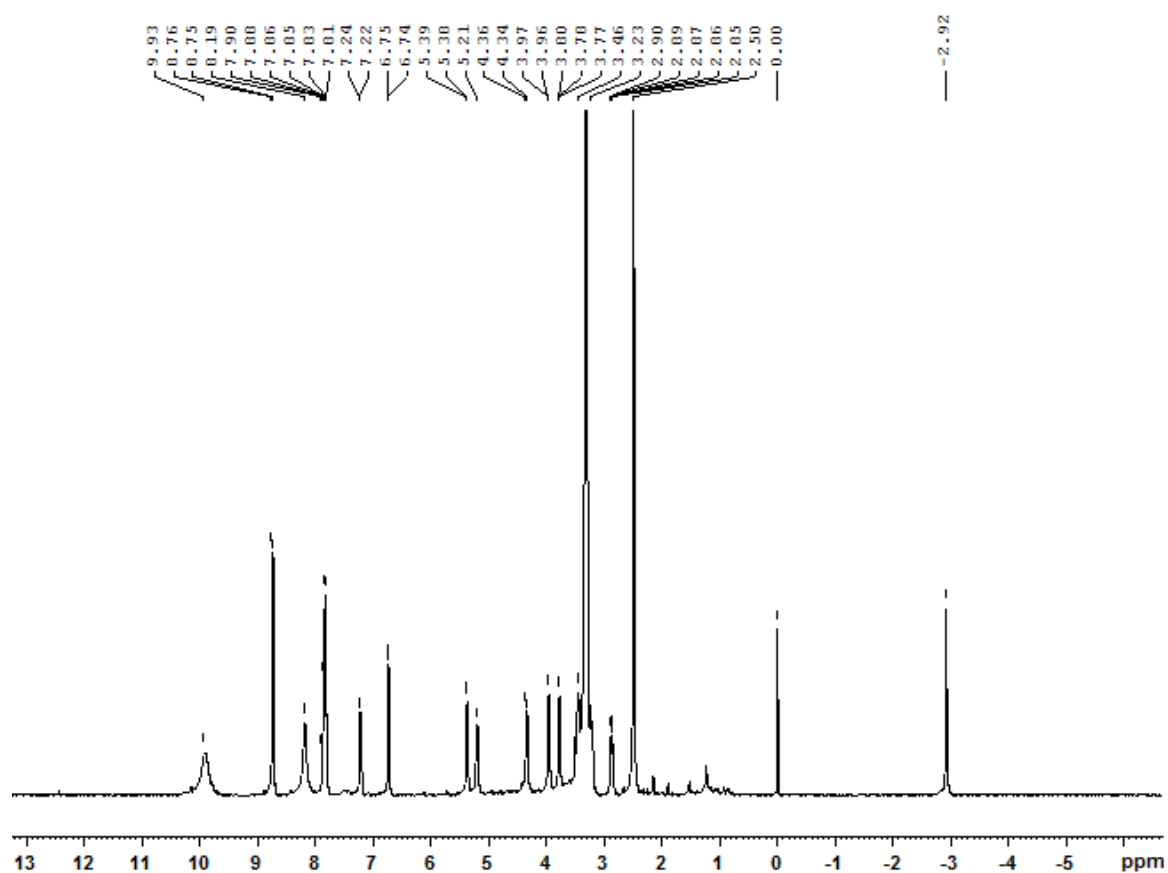
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **49**:



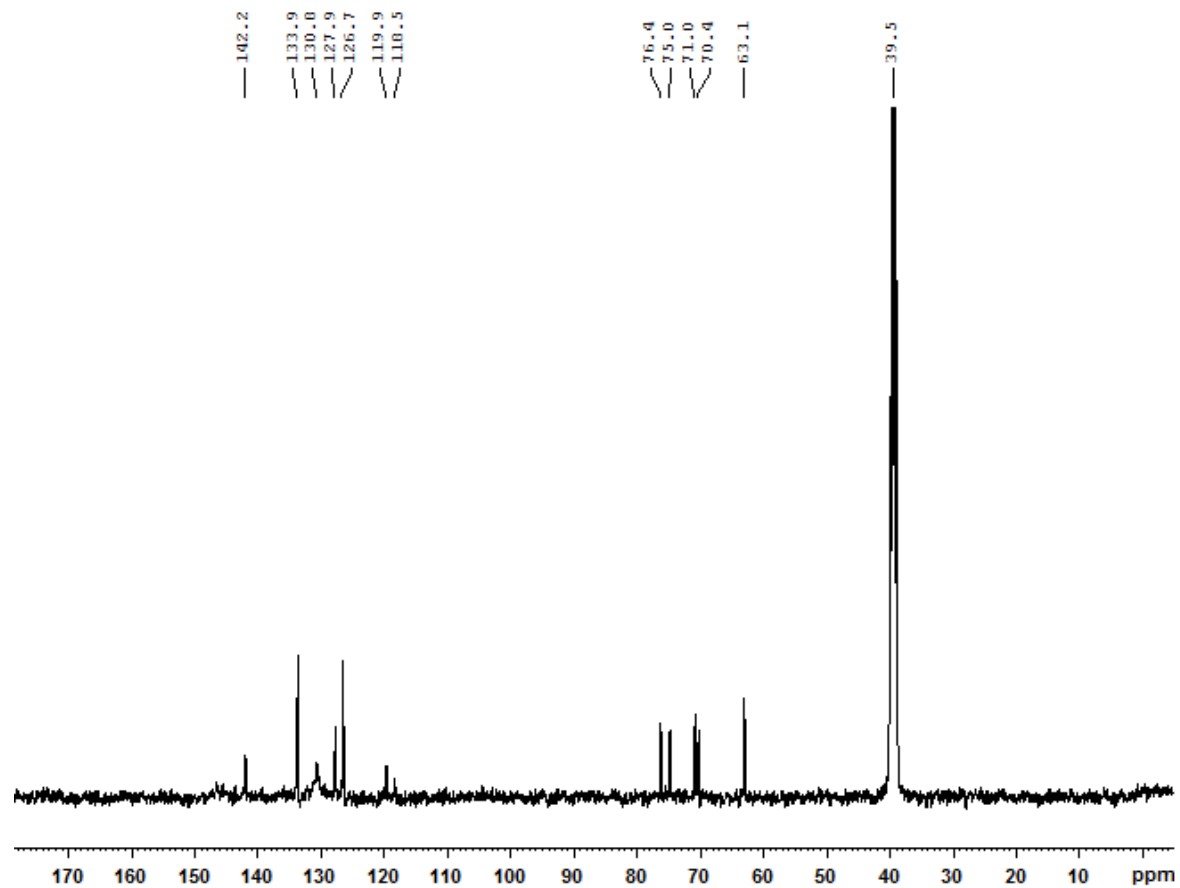
Composto **50**: 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)- D-xilitol)]porfirina



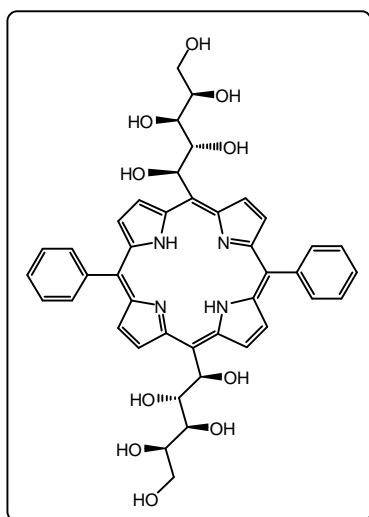
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **50**:



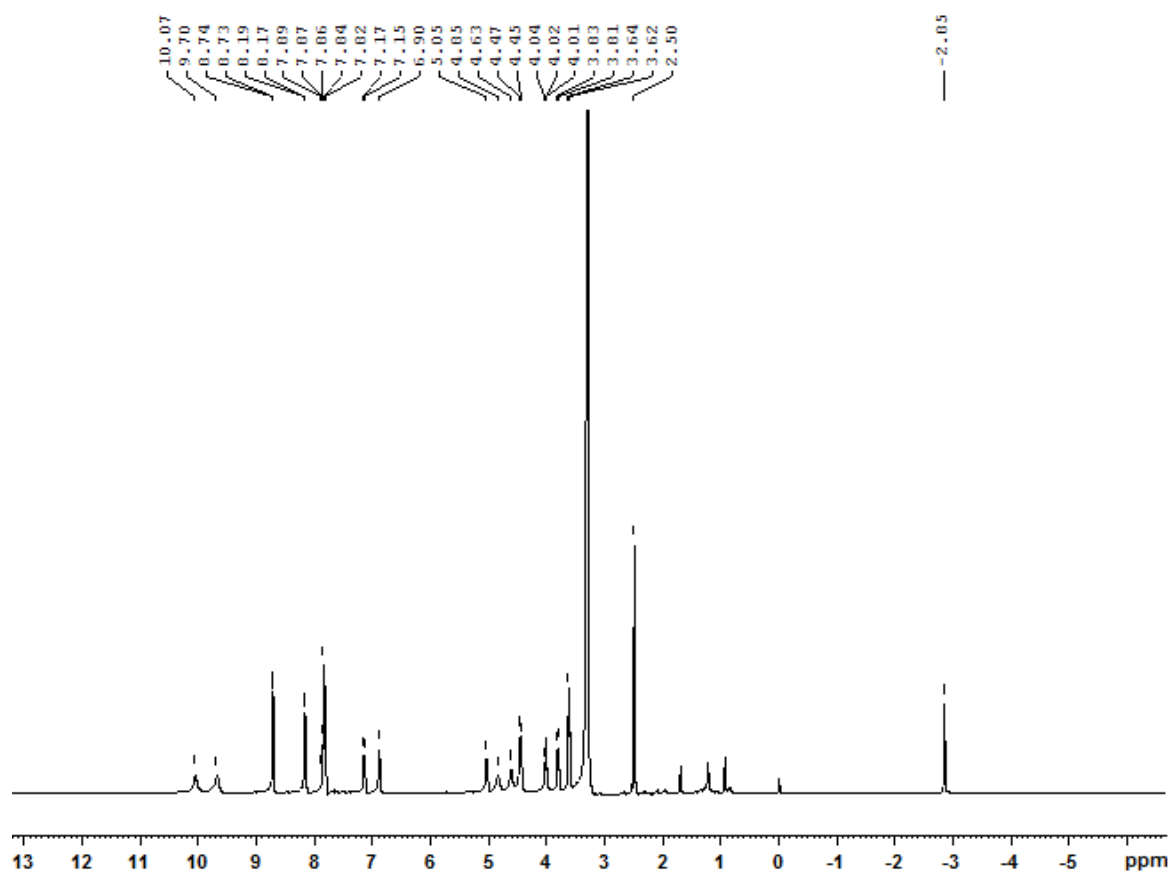
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **50**:



Composto **51**: 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'*R*)-D-arabinitol)]porfirina

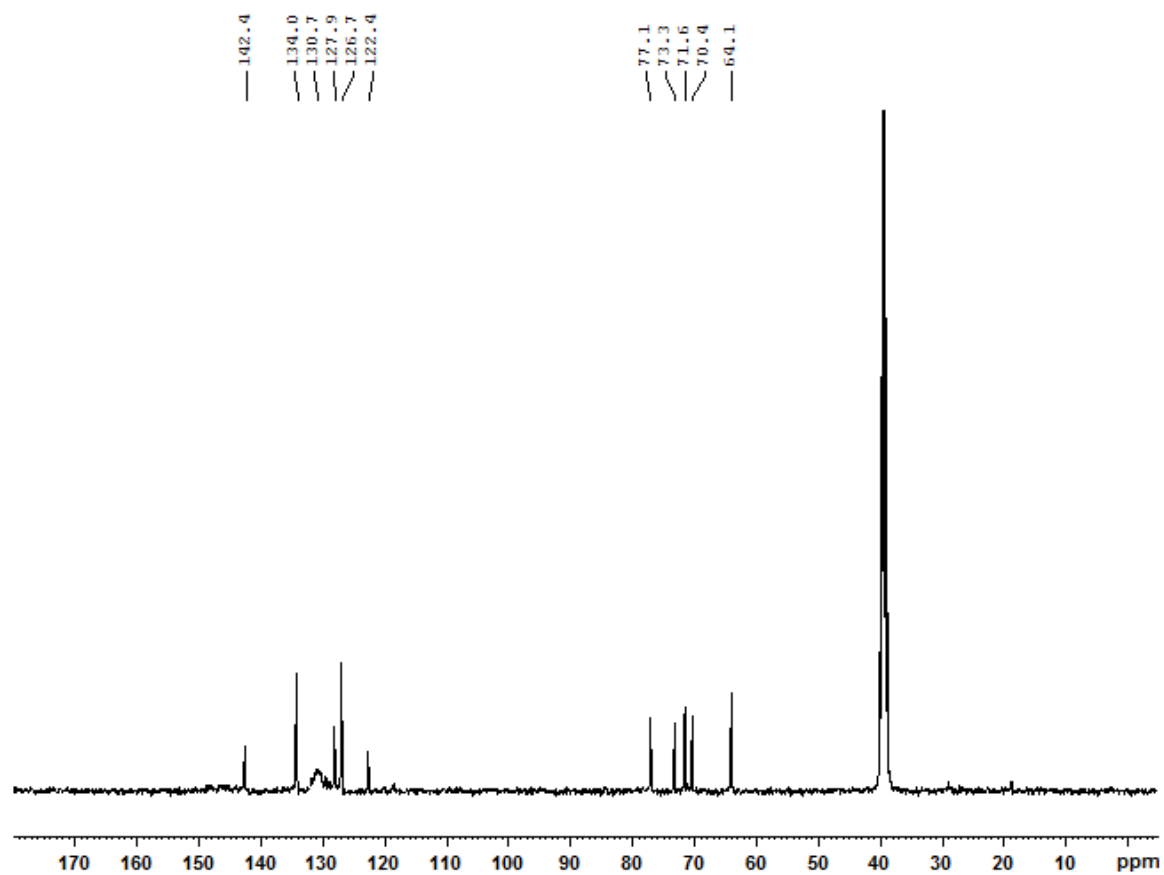


RMN de  $^1\text{H}$  do composto **51**:

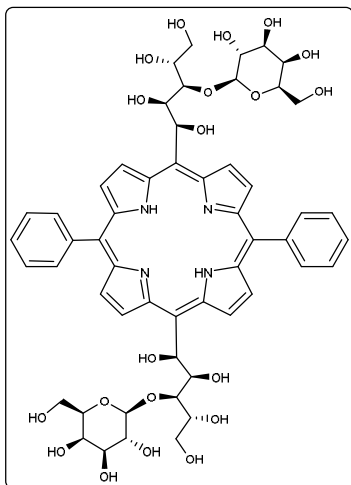




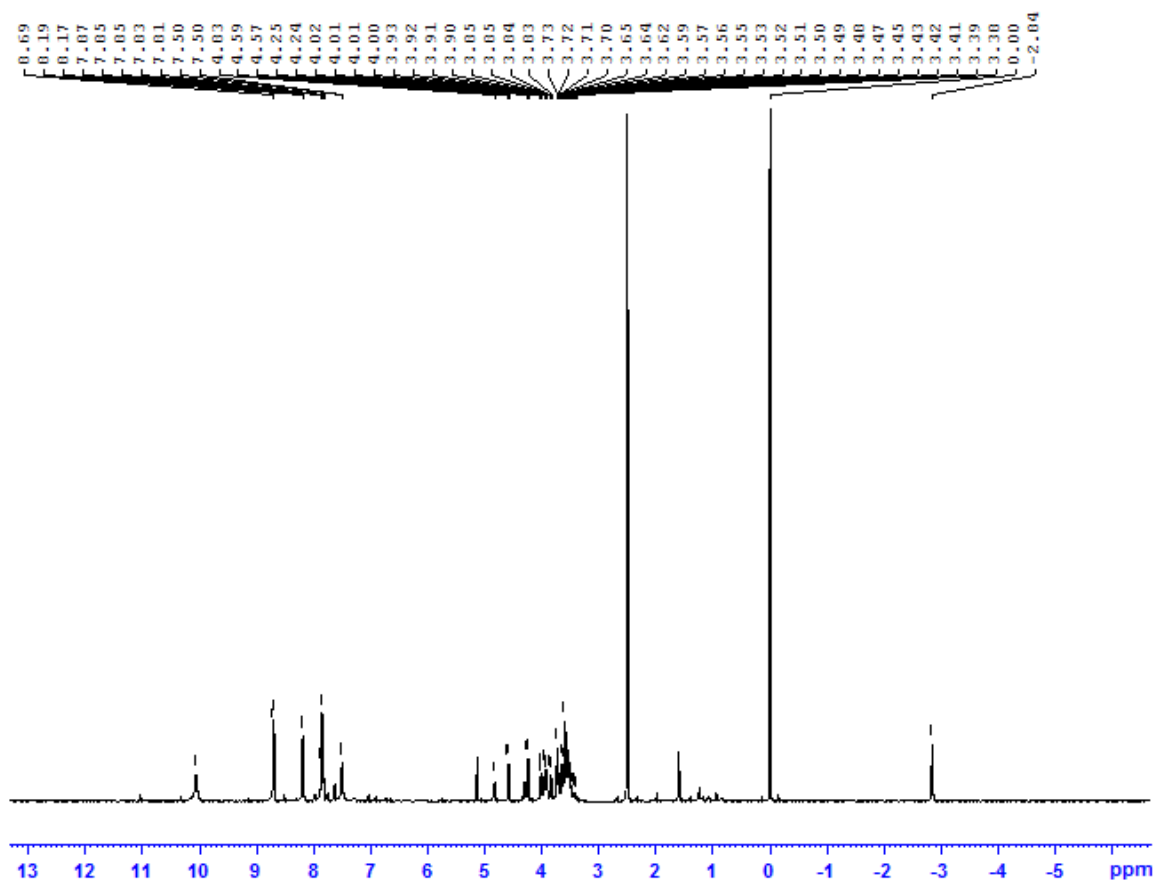
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **51**:



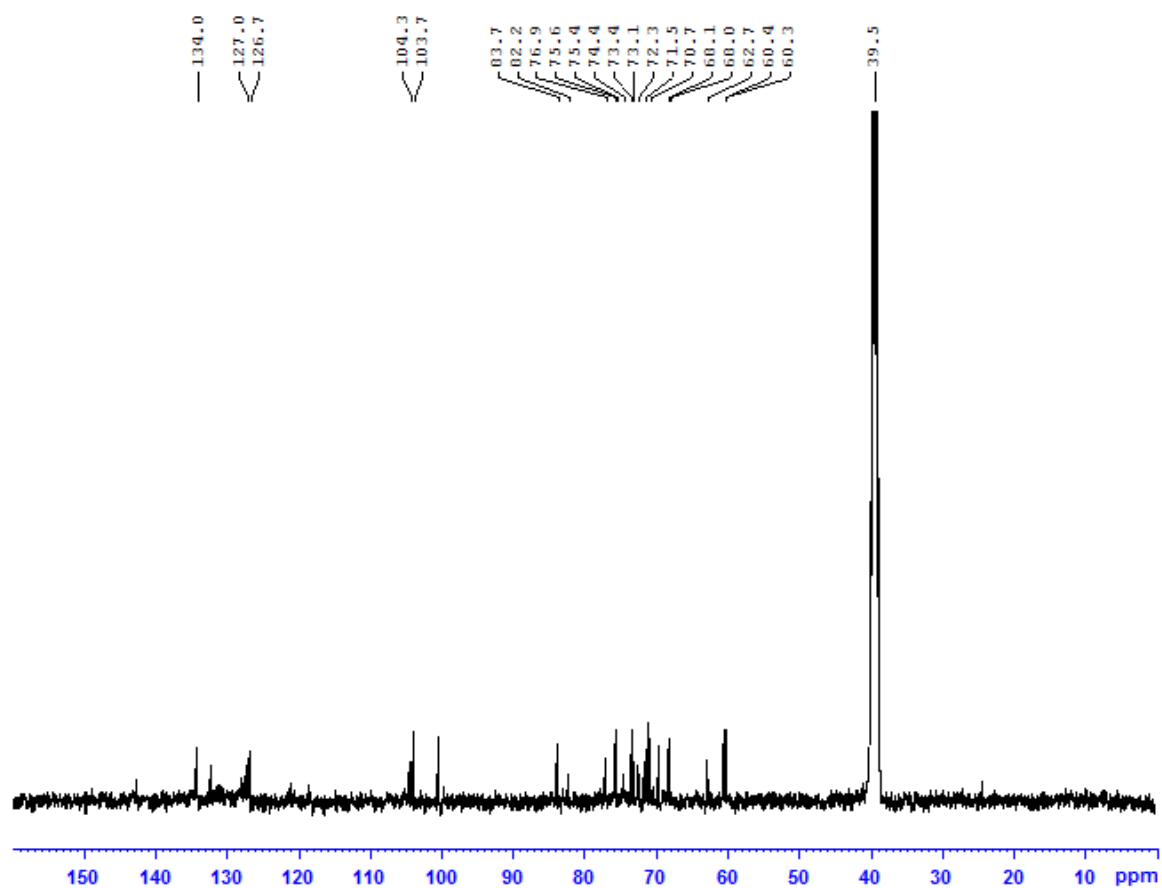
Composto **52**: 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'S)-3'-(1''-O-β-D-galactopiranosil-D-xilitol)]porfirina



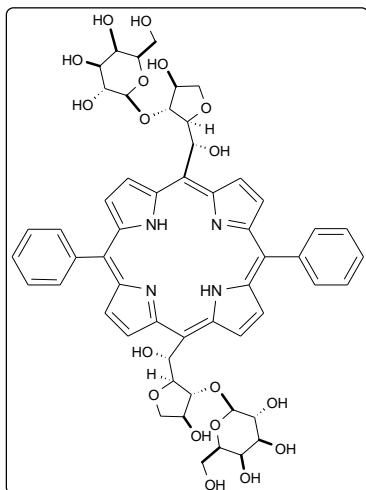
RMN de  $^1\text{H}$  do composto **52**:



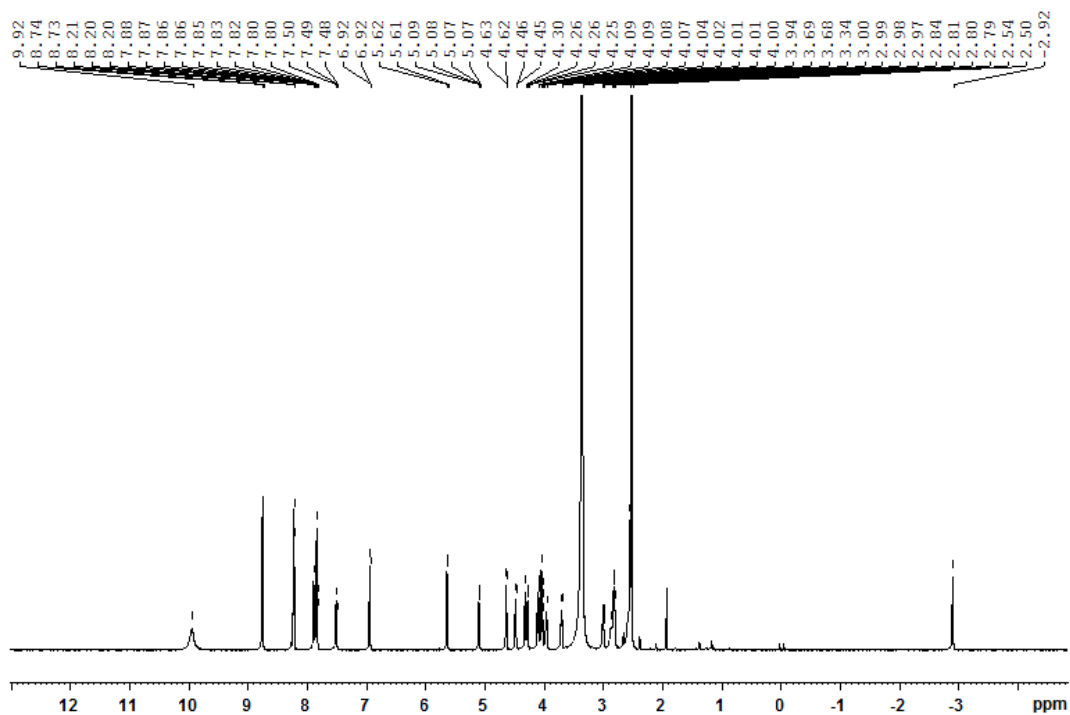
RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **52**:



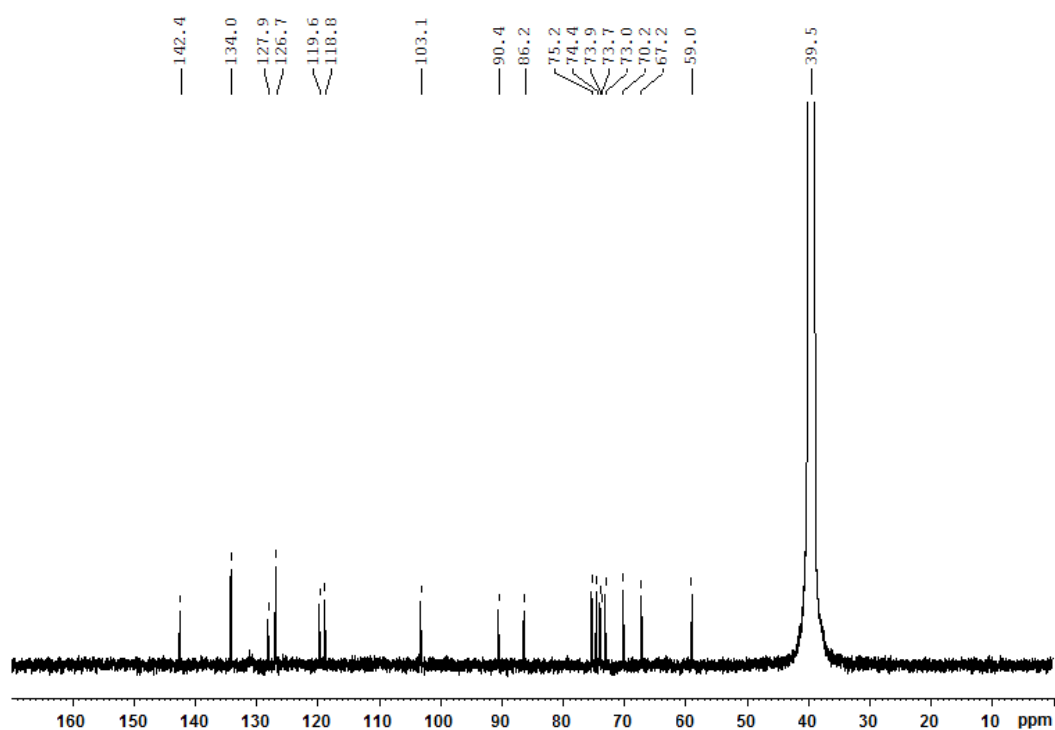
Composto **53**: 5,15-[bis(fenil)]-10,20-[bis(1'-C-(1'*R*)-2',5'-anidro-3'-(1''-O-β-D-galactopiranosil)-D-lixitol)]porfirina



RMN de  $^1\text{H}$  do composto **53**:



RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **53**:



HRMS (ESI) do composto **53**:

